

1

ЯНВАРЬ – ФЕВРАЛЬ

Том 99
2022

Ж
М
Э
И

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

ЖУРНАЛ
МИКРОБИОЛОГИИ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И
ИММУНОБИОЛОГИИ

JOURNAL

OF MICROBIOLOGY
EPIDEMIOLOGY
AND
IMMUNOBIOLOGY

1

JANUARY – FEBRUARY

VOLUME 99
2022

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

ЖУРНАЛ МИКРОБИОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ИММУНОБИОЛОГИИ

(Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii)

Двухмесячный научно-практический журнал

Основан в 1924 г.

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

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

- 1.2.10. Вирусология (медицинские и биологические науки),
- 1.5.11. Микробиология (медицинские и биологические науки),
- 3.2.2. Эпидемиология (медицинские и биологические науки),
- 3.2.7. Аллергология и иммунология (медицинские и биологические науки).

1

ЯНВАРЬ – ФЕВРАЛЬ

**ТОМ 99
2022**

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

Свидетельство ПИ № ФС77-75442

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

DOI prefix: 10.36233

Журнал открытого доступа,
не берущий плату за публикации.
Контент доступен под лицензией
Commons Attribution International
4.0 CC-BY.

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

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

**Журнал представлен
в международных базах данных
и информационно-справочных
системах:**

SCOPUS, Russian Science Citation
Index (RSCI), интегрированная с
платформой Web of Science; DOAJ;
Ulrich's Periodicals Directory, ROAD;
EBSCO Publishing (на платформе
EBSCOhost); CrossRef; Dimensions.

ПОДПИСКА:

«Объединенный каталог. Пресса
России. Газеты и журналы»,
подписные индексы: E71436, 71436.

**Полные тексты статей журнала
доступны на сайтах:**

[https://www.microbiol.elpub.ru/](https://www.microbiol.elpub.ru;);
<https://www.elibrary.ru/>;
<https://www.cyberleninka.ru/>;
<https://www.rucont.ru/>;
<https://www.ebsco.com>.

УЧРЕДИТЕЛИ:

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора
www.crie.ru
Всероссийское научно-практическое
общество эпидемиологов,
микробиологов и паразитологов

ИЗДАТЕЛЬ:

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора
111123, Москва,
ул. Новогиреевская, д. 3А.
Тел.: +7(495) 974-96-46.
E-mail: crie@pcr.ru

*Начальник редакционно-
издательского отдела:*

Осокина Ольга Владимировна

РЕДАКЦИЯ:

111123, Москва,
ул. Новогиреевская, д. 3А.
Тел.: +7(925)011-87-79.
E-mail: jmei@crie.ru

Заведующая редакцией:

Устинкова Ольга Владимировна

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

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

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

Подписано в печать 27.12.2021.
Формат 60×90^{1/8}. Тираж 280 экз.
Усл.-печ. л. 15,5.

Отпечатано в «Объединенный
полиграфический комплекс».
115114, Москва, Дербеневская
набережная, 7с2.
E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

Заместитель главного редактора

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

Ответственный секретарь

Платонов А.Е., д.м.н., проф., главный научный сотрудник лабораторией эпидемиологии природно-очаговых инфекций, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Российские члены редакционной коллегии

Акимкин В.Г., д.м.н., проф., академик РАН, директор ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

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

Брусина Е.Б., д.м.н., проф., зав. кафедрой эпидемиологии, Кемеровский государственный медицинский университет, Кемерово

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

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

Горелов А.В., д.м.н., проф., член-корр. РАН, зам. директора по научной работе ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Жирнов О.П., д.б.н., проф., чл.-корр. РАН, зав. лабораторией вирусного патогенеза Института вирусологии им. Д.И. Иванковского, ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

Караулов А.В., д.м.н., проф., академик РАН, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

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

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

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

Лобзин Ю.В., д.м.н., проф., академик РАН, директор, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург

Иностранные члены редакционной коллегии

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

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

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

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

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

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

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

Малеев В.В., д.м.н., проф., академик РАН, советник директора, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Михайлов М.И., д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, зав. лабораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва; проф. кафедры эпидемиологии Белгородского государственного университета, Белгород

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

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

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

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

Тотолян А.А., д.м.н., проф., академик РАН, директор, Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург

Черкасов С.В., д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, врио директора, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург

Шаркова В.А., д.м.н., проф., зав. кафедрой микробиологии и вирусологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток

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 for Epidemiology
Russian Scientific Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists

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

Bimonthly scientific and practical journal

Founded in 1924

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

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

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

The journal is indexed in the SCOPUS database and admitted to the Index of leading peer-reviewed scientific journals intended for publication of key research results of MD Theses, as recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education and Science:

- 1.2.10. Virology (medical and biological sciences);
- 1.5.11. Microbiology (medical and biological sciences);
- 3.2.2. Epidemiology (medical and biological sciences);
- 3.2.7. Clinical immunology, Allergology (medical and sciences)

1

JANUARY–FEBRUARY

VOLUME 99

2022

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

ISSN 0372-9311 (Print)
ISSN 2686-7613 (Online)
DOI prefix: 10.36233

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

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

The CrossMark service is used.

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

The Journal is indexed by the following abstracting and indexing services: SCOPUS, Russian Science Citation Index (RSCI) database, integrated in Web of Science; DOAJ; Ulrich's Periodicals Directory, ROAD; EBSCO Publishing (on the EBSCOhost platform); CrossRef; Dimensions.

Index for subscription to the printed version of the journal: United directory. Press of Russia. Newspapers and magazines: E71436, 71436.

Full texts of issues of the journal are available:
[https://www.microbiol.elpub.ru/](https://www.microbiol.elpub.ru;);
<https://www.elibrary.ru/>;
<https://www.cyberleninka.ru/>;
<https://www.rucont.ru/>;
<https://www.ebsco.com>.

FOUNDERS:

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

PUBLISHER:

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

EDITORIAL OFFICE:

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

Head of the Editorial and publishing department:
Olga V. Osokina

Head of Editorial Office:
Olga V. Ustinkova

The Editorial Board is not responsible for the advertising content.

The materials that do not meet the requirements of the journal (www.microbiol.elpub.ru) are rejected without further consideration.

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

Signed to the press on December 27, 2021. Print format 60×90^{1/8}. Circulation 280 copies.

Printed at the Ob'yedinenny poligraficheskiy kompleks Ltd.115114, 7C2, Derbenevskaya emb., Moscow, Russian Federation.
E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

© Central Research Institute for Epidemiology, 2022

EDITOR-IN-CHIEF

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

Deputy Editor

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

Executive Secretary

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

EDITORIAL BOARD

Russian members of the Editorial Board

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

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

Elena B. Brusina, professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of epidemiology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo

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

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

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

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

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

Alexander N. Kulichenko, D. Sci. (Medicine), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia

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

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

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

Foreign members of the Editorial Board

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Sergey V. Cherkasov, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of RAS, Orenburg

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

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

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Петруша О.А., Корчевая Е.Р., Минтаев Р.Р., Исаков И.Ю., Никонова А.А., Мескина Е.Р., Ушакова А.Ю., Хадисова М.К., Зверев В.В., Файзулов Е.Б. Молекулярно-генетические особенности ротавирусов группы А, выявленных в Москве в 2015–2020 гг.*	7
Кондратова С.Е., Марченко А.Н. Анализ факторов риска, определяющих проявление эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в пенитенциарной системе*	20
Щемелев А.Н., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Зуева Е.Б., Валутите Д.Э., Семенова Д.А., Давыденко В.С., Тоголян А.А. Генетическое разнообразие и мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в Ленинградской области*	28
Питерский М.В., Гусев А.Г., Ходаков О.А., Захарова Ю.А., Семенов А.В. Разнообразие субтипов, филогенетический анализ и изучение лекарственной устойчивости штаммов ВИЧ-1, циркулирующих в Уральском федеральном округе	39
Свитич О.А., Кинкулькина А.Р., Авагян А.С., Гаврилова Т.В. Роль полиморфизма гена eNOS в иммунопатогенезе первичной открытоугольной глаукомы*	54
Хачатурова А.А., Пономаренко Д.Г., Ковалев Д.А., Германова А.Н., Лукашевич Д.Е., Русанова Д.В., Сердюк Н.С., Семенко О.В., Жиров А.М., Катунина Л.С., Куличенко А.Н. Анализ заболеваемости людей бруцеллёзом и молекулярно-биологическая характеристика изолятов <i>Brucella melitensis</i> на длительно неблагополучных по бруцеллёзу территориях юга европейской части России	63
Передельская Е.А., Сафьянова Т.В. Оценка экономического ущерба, наносимого заболеванием ветряной оспой детей 0–17 лет в Алтайском крае	75
Филиппенко А.В., Иванова И.А., Омельченко Н.Д., Труфанова А.А. Влияние иммуномодуляторов на формирование поствакцинального противохолерного иммунитета	81
ОБЗОРЫ	
Попкова М.И., Уткин О.В. Генетическое разнообразие вируса Эпштейна–Барр: современный взгляд на проблему	93
Смирнова С.С., Егоров И.А., Голубкова А.А. Гнойно-септические инфекции у родильниц. Часть 1. Распространённость, факторы риска, эпидемиологический надзор (обзор литературы)	109
Чемисова О.С., Цырулина О.А., Трухачев А.Л., Носков А.К. Сравнительный анализ методов изотермической амплификации нуклеиновых кислот	126
ХРОНИКА	
III Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы»	139
НЕКРОЛОГИ	
Памяти Софьи Шаевны Рожновой (28 июня 1938 года – 29 января 2022 года)	141

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

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCHES

Petrusha O.A., Korchevaya E.R., Mintaev R.R., Nikonova A.A., Isakov I.Yu., Meskina E.R., Ushakova A.Yu., Khadisova M.K., Zverev V.V., Faizuloev E.B. Molecular and genetic characteristics of group A rotaviruses detected in Moscow in 2015–2020*	7
Kondratova S.E., Marchenko A.N. Analysis of risk factors affecting the HIV epidemic process in the penitentiary system*	20
Shchemelev A.N., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Valutite D.E., Semenova D.A., Davydenko V.S., Totolian A.A. Genetic diversity and drug resistance mutations of HIV-1 in Leningrad Region*	28
Piterskiy M.V., Gusev A.G., Khodakov O.A. Zakharova Yu.A., Semenov A.V. HIV-1 subtype diversity, phylogenetic analysis and study of drug resistance in strains circulating in the Ural Federal District	39
Svitich O.A., Kinkulkina A.R., Avagyan A.S., Gavrilova T.V. The role of eNOS gene polymorphisms in immunopathogenesis of primary open-angle glaucoma*	54
Khachaturova A.A., Ponomarenko D.G., Kovalev D.A., Germanova A.N., Lukashevich D.E., Rusanova D.V., Serdyuk N.S., Semenko O.V., Zhiron A.M., Katunina L.S., Kulichenko A.N. Analysis of cases of brucellosis in humans and molecular-biological characteristics of <i>Brucella melitensis</i> strains in regions of South European Russia with a high brucellosis incidence	63
Peredelskaya E.A., Safyanova T.V. Assessment of the economic damage caused by chickenpox disease in children aged 0–17 years in the Altai Territory	75
Filippenko A.V., Ivanova I.A., Omelchenko N.D., Trufanova A.A. The influence of immunomodulators on the formation of vaccine-induced cholera immunity	81
REVIEWS	
Popkova M.I., Utkin O.V. Genetic diversity of the Epstein–Barr virus: a modern view of the problem	93
Smirnova S.S., Egorov I.A., Golubkova A.A. Purulent-septic infections in puerperas. Part 1: prevalence, risk factors, epidemiological surveillance (literature review)	109
Chemisova O.S., Tsyulina O.A., Truhachev A.L., Noskov A.K. Comparative analysis of methods for isothermal amplification of nucleic acids	126
CHRONICLE	
Akimkin V.G. Modern immunoprophylaxis: challenges, opportunities, prospects: All-Russian scientific and practical conference with international participation (Moscow, October 7–8, 2021)	139
OBITUARIES	
In memory of Sofia Shaevna Rozhnova	141

* The article is published in Russian and English on the journal's website: <https://www.microbiol.elpub.ru>.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-208>



Молекулярно-генетические особенности ротавирусов группы А, выявленных в Москве в 2015–2020 гг.

Петруша О.А.^{1✉}, Корчевая Е.Р.¹, Минтаев Р.Р.¹, Исаков И.Ю.¹, Никонова А.А.¹, Мескина Е.Р.^{1,2}, Ушакова А.Ю.², Хадисова М.К.², Зверев В.В.³, Файзулов Е.Б.¹

¹Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия;

²Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского, Москва, Россия;

³Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация

Цель работы — анализ генетических характеристик штаммов ротавирусов группы А (РВА), циркулировавших в Москве в 2015–2020 гг., включая редкие штаммы, нетипируемые методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Материалы и методы. Исследовали 289 фекальных образцов от детей в возрасте от 1 мес до 17 лет, госпитализированных с острым гастроэнтеритом. Выявление ротавирусов в образцах проводили методами иммунохроматографии и обратной транскрипции (ОТ) с ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ). Секвенирование ротавирусного генома проводили по Сэнгеру и методом нанопорового секвенирования.

Результаты и обсуждение. В 131 клиническом образце была выявлена РНК РВА, в 125 случаях из них был установлен *G/[P]*-генотип. В общей структуре преобладали штаммы РВА с генотипом *G9P[8]I1* (37%), за ними следовали варианты *G3P[8]I2*, *G4P[8]I1*, *G2P[4]I2*, *G1P[8]I1* и *G3P[8]I1* (18, 15, 11, 5 и 2% соответственно). Семь (5%) изолятов были идентифицированы как *GxP[8]*. В 2015–2020 гг. в регионе снизилась частота встречаемости генотипа *G4P[8]I1* (с 39 до 9%) и выросла доля генотипа *G9P[8]I1* (с 6 до 37%) по сравнению с 2009–2014 гг. В 2018–2020 гг. выявлена высокая доля не встречавшегося ранее DS-1-подобного реассортантного штамма *G3P[8]I2*, широко распространившегося в мире в последние годы. Методом нанопорового секвенирования проведён анализ генома штамма *G3P[8]I2* и редкого штамма *G4P[6]I1*. Для штамма *G4P[6]I1* установлена тесная филогенетическая связь с ротавирусами свиней.

Заключение. За последние годы в генетической структуре РВА, циркулирующих на территории московского региона, произошли существенные изменения. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости постоянного мониторинга ротавирусной инфекции и выборочного секвенирования генов РВА для уточнения данных типоспецифической ОТ-ПЦР-РВ. Из-за постоянных изменений генетического состава циркулирующих штаммов РВА требуется периодическая оптимизация систем генотипирования РВА на основе ОТ-ПЦР-РВ.

Ключевые слова: ротавирусы группы А, острый гастроэнтерит, *G/[P]*-генотипирование, нанопоровое секвенирование

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом НИИВС им. И.И. Мечникова (Протокол № 6 от 24.09.2021).

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 0525-2019-0037).

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

Для цитирования: Петруша О.А., Корчевая Е.Р., Минтаев Р.Р., Исаков И.Ю., Никонова А.А., Мескина Е.Р., Ушакова А.Ю., Хадисова М.К., Зверев В.В., Файзулов Е.Б. Молекулярно-генетические особенности ротавирусов группы А, выявленных в Москве в 2015–2020 гг. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):7–19.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-208>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-208>

Molecular and genetic characteristics of group A rotaviruses detected in Moscow in 2015–2020

Olga A. Petrusha¹✉, Ekaterina R. Korchevaya¹, Ramil R. Mintaev¹, Alexandra A. Nikonova¹, Igor Yu. Isakov¹, Elena R. Meskina^{1,2}, Anna Yu. Ushakova², Marima K. Khadisova², Vitaly V. Zverev³, Evgeny B. Faizuloev¹

¹I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

²M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia;

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

Abstract

The **aim** of the study was to analyze genetic characteristics of strains belonging to group A rotaviruses (RVA) circulating in Moscow in 2015–2020, including rare strains non-typeable by polymerase chain reaction (PCR).

Materials and methods. A total of 289 stool samples were tested; the samples were collected from children aged 1 month to 17 years, hospitalized with acute gastroenteritis. Immunochromatography and real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) assays were used for detection of rotaviruses in the samples. The rotavirus genome sequencing was performed using the Sanger technique and nanopore sequencing.

Results and discussion. RVA RNA was detected in 131 clinical samples, and the *G/[P]* genotype was identified in 125 samples. The general profile showed prevalence of RVA strains with the *G9P[8]I1* genotype (37%) followed by *G3P[8]I2*, *G4P[8]I1*, *G2P[4]I2*, *G1P[8]I1*, and *G3P[8]I1* variants (18, 15, 11, 5, and 2%, respectively). Seven (5%) isolates were identified as *GxP[8]*. In 2015–2020, the region reported a decline in *G4P[8]I1* genotype prevalence (from 39% to 9%) and an increase in the proportion of the *G9P[8]I1* genotype (from 6% to 37%) as compared to 2009–2014. In 2018–2020, a large number of cases with the previously unknown DS-1-like reassortant strain with the *G3P[8]I2* genotype were reported; the above strain has become widely common worldwide in the recent years. Nanopore sequencing was performed to analyze the genome of the *G3P[8]I2* strain and the rare *G4P[6]I1* strain. It was found that the *G4P[6]I1* strain was phylogenetically related to porcine rotaviruses.

Conclusion. In the recent years, the genetic diversity of RVA circulating in the Moscow Region has changed significantly. The obtained results prove the importance of continuous monitoring of rotavirus infection and selective sequencing of RVA genes to fine-tune data of the type-specific real-time RT-PCR. The ever-changing genetic composition of the circulating RVA strains calls for regular optimization of RVA genotyping systems based on real-time RT-PCR.

Keywords: group A rotaviruses, acute gastroenteritis, *G/[P]*-genotyping, nanopore sequencing

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (Protocol No. 6, September 24, 2021).

Funding source. The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (subject no. 0525-2019-0037).

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

For citation: Petrusha O.A., Korchevaya E.R., Mintaev R.R., Nikonova A.A., Isakov I.Yu., Meskina E.R., Ushakova A.Yu., Khadisova M.K., Zverev V.V., Faizuloev E.B. Molecular and genetic characteristics of group A rotaviruses detected in Moscow in 2015–2020. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunologii*. 2022;99(1):7–19.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-208>

Введение

Ротавирусы группы А (РВА) являются основной причиной госпитализации детей в возрасте до 5 лет с острым гастроэнтеритом в странах с низким охватом вакцинацией против ротавируса. В 2016 г. ротавирусная инфекция (РВИ) вызвала 258 млн эпизодов диареи и 128 500 случаев смерти среди детей в возрасте до 5 лет во всём мире [1].

В 2020 г. вакцинация против РВА была включена в национальные программы иммунизации

107 стран¹. Иммунизация от РВИ в России включена в Календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям. Четыре ротавирусные вакцины в настоящее время рекомендованы ВОЗ и лицензированы для использования: пятивалентные — RotaTeq («Merck & Co., Inc.»), ROTASIL (Serum institute of India PVT. Ltd.); и моновалент-

¹ URL: <https://preventrotavirus.org/vaccine-introduction/global-introduction-status>

ные — Rotarix («GlaxoSmithKline»), ROTAVAC («Bharat Biotech»). Массовая вакцинация против РВА снижает заболеваемость и частоту госпитализации с острым гастроэнтеритом во всех возрастных группах, особенно у младенцев и людей старше 65 лет [2].

РВА относятся к виду *Rotavirus A*, рода *Rotavirus*, семейства *Reoviridae*. Геном ротавирусов представлен 11 сегментами двухцепочечной РНК, кодирующими синтез 12 белков [3]. Современная система классификации ротавирусов предполагает генотипирование по всем 11 генам (*Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx*). Большинство циркулирующих РВА человека относятся к 3 эволюционным линиям, отличающимся конstellациями генома: *Wa*-подобные штаммы (*G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1*), *DS-1*-подобные (*G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2*) и *AU-1*-подобные штаммы (*G3-P[3]-I3-R3-C3-M3-A3-N3-T3-E3-H3*) [3]. Ранее широко применялась схема типирования, в которой определялись только гены белков VP7 (*G*) и VP4 (*P*). *G/[P]*-генотипирование штаммов РВА выполняется в реакции ОТ с последующей мультиплексной полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР) [4] или секвенированием соответствующих генов.

В настоящее время генотипы *G1P[8]*, *G2P[4]*, *G3P[8]*, *G4P[8]*, *G12P[8]* и *G9P[8]*, гомотипные или частично гетеротипные по отношению к используемым лицензированным вакцинам (RotaTeq и Rotarix), доминируют среди циркулирующих штаммов РВА во всем мире [5]. Описаны случаи как межвидовой передачи РВА от животных человеку, так и заражения человека штаммами, образованными в результате реассортации штаммов ротавирусов животных и человека [6–8].

Эволюционная изменчивость штаммов РВА во времени [9], территориальные различия в распределении циркулирующих штаммов, увеличение их разнообразия после введения иммунизации в некоторых регионах, изменение генотипической структуры как в странах с плановой вакцинацией, так и без нее требуют постоянного эпидемиологического мониторинга РВИ [10].

Целью настоящего исследования является анализ генетических характеристик штаммов РВА, циркулировавших в Москве в 2015–2020 гг., включая редкие штаммы, не типизируемые методом ПЦР.

Материалы и методы

Клинические образцы

Всего за 5 лет (2015–2020 гг.) было собрано 289 образцов стула у детей в возрасте от 1 мес до 17 лет с симптомами острого гастроэнтерита, госпитализированных в МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Дети, прошедшие вакцинацию против

РВИ, не были включены в исследование. Информированное согласие было получено от родителей или законных представителей для всех испытуемых.

В 45 пробах антиген РВА был обнаружен методом иммунохроматографии (набор реагентов «RIDA Quick Rotavirus», «R-Biopharm AG»). Образцы фекалий собирались в стерильные контейнеры у пациентов с диарей (не более 72 ч после появления симптомов), до отправки в лабораторию образцы хранились при температуре -20°C , затем отправлялись в НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова для генетического анализа ротавирусов.

Выделение РНК

Для изоляции РНК использовали осветлённые центрифугированием (5000 об/мин, 5 мин) 10% фекальные экстракты, приготовленные в стерильном физиологическом растворе. Выделение РНК из экстрактов проводили набором «АмплиСенс® МАГНО-сорб» («ИнтерЛабСервис») в соответствии с инструкцией по применению. Образцы РНК хранили при -80°C .

Детекция ротавирусной РНК

Обнаружение РВА в клинических образцах методом ОТ-ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) выполняли в формате одной пробирки с использованием праймеров и зондов, описанных ранее [11]. Генотипирование РВА двухэтапной мультиплексной ПЦР-РВ для генов белков VP7 (*G1*, *G2*, *G3*, *G4*, *G9*), VP4 (*P[4]*, *P[6]*, *P[8]*) и VP6 (*I1*, *I2*) проводили согласно методике [12]. Анализ генотипирования РВА, основанный на мультиплексной ОТ-ПЦР с последующим анализом продуктов ПЦР с помощью электрофореза в агарозном геле, использовали в качестве эталонного метода и выполняли, как описано в рекомендациях ВОЗ [4].

Амплификация и секвенирование генов белков VP7 и VP4

Для секвенирования генов белков VP7 и VP4 штаммов *G3P[8]I2* амплификацию выполняли с использованием описанных ранее праймеров для секвенирования VP7F/VP7R [13] и VP4F/VP4R [14], образующих ампликоны размером 881 и 663 пар оснований соответственно. Аликвоты выделенной РНК (10 мкл) смешивали с 3 пмоль праймерами VP7F или VP4F, инкубировали при 95°C в течение 1 мин и охлаждали в течение 2–3 мин при комнатной температуре. Реакцию ОТ проводили в общем объёме 25 мкл, содержащем праймер ОТ, 25 единиц обратной транскриптазы MMLV («Синтол», Россия). Стадия ОТ включала инкубацию для синтеза кДНК при 45°C в течение 30 мин и инактивацию обратной транскриптазы MMLV при 95°C в течение 5 мин. Температурно-временной режим ПЦР-РВ:

95°C — 120 с; 95°C — 60 с, 52°C — 40 с, 72°C — 40 с (45 циклов); 72°C — 40 с. ПЦР-ампликоны каждого гена очищали с помощью набора «Cleanup Standard» («Евроген») и проводили секвенирование обеих цепей ДНК с использованием генетического анализатора «NANOPHORE®05» («Синтол») и реагентов компании «Синтол».

Нанопоровое секвенирование ротавирусного генома и биоинформатический анализ

Полногеномная кДНК ротавирусных генных сегментов была получена с помощью смеси праймеров unRAf1, unRAf2, unRAf3, unRAR1, unRAR2 и unRAR3 (табл. 1) для реакции ОТ. Для одновременной амплификации всех сегментов гена РВА использовали «универсальный» праймер Up [15] (табл. 1). Амплификация проводилась в следующей реакционной смеси: TaKaRa LA Taq полимераза (2,5 ЕД), LA PCR Buffer II (Mg²⁺plus), 25 мМ MgCl₂ (финальная концентрация Mg²⁺ 5 мМ) («ТаКаРа»), dNTP 25 мМ («Синтол»), 40 пмоль Up праймера. Параметры амплификации: 95°C — 2 мин, затем 40 циклов при 95°C по 30 с, 65°C — 30 с, 68°C — 3,5 мин. ПЦР-ампликоны очищали экстракцией фенол/хлороформ. Концентрацию и чистоту ампликонов измеряли спектрофотометрическим методом (A260/230, 260/280).

Библиотеку ДНК для нанопорового секвенирования (НПС) получали с использованием набора реагентов «Rapid Sequencing Kit» на портативном секвенаторе «MinION» с использованием стандартной проточной ячейки R9 («Oxford Nanopore Technologies»). Был разработан конвейер, позволяющий точно классифицировать исходные данные НПС. Конвейер на основе языка программирования Python идентифицировал полученные прочтения, запуская BLAST-анализ для базы данных эталонных последовательностей сегментов генома ротавируса². Затем проводилось картирование прочтений на референсную последовательность с использованием программы Minimap2 [16] и создание консенсусной последовательности с использованием скрипта³, написанного на языке Python. В консенсусной последовательности выбирались нуклеотиды с наибольшей частотой встречаемости в положении выравнивания.

В редких случаях, когда два нуклеотида обнаруживались в одном положении в равном количестве, второй нуклеотид игнорировался. Идентификацию генотипа РВА по нуклеотидной последовательности генных сегментов проводили с помощью онлайн-сервиса «Rotavirus A Genotype

Таблица 1. Праймеры для амплификации полноразмерных генных сегментов ротавирусов

Table 1. Primers for amplification of full length rotavirus gene segments

Праймер Primer	Последовательность праймера 5'–3' Primer sequence 5'–3'
unRAf1	GCCGGAGCTCTGCAGAATTCGGCTWTWAAA
unRAf2	GCCGGAGCTCTGCAGAATTCGGCTTTTTTT
unRAf3	GCCGGAGCTCTGCAGAATTCGGCTTTTAAT
unRAR1	GCCGGAGCTCTGCAGAATTCGGTCAYATC
unRAR2	GCCGGAGCTCTGCAGAATTCGGTCACAWA
unRAR3	GCCGGAGCTCTGCAGAATTCAGCCACATG
Up	GCCGGAGCTCTGCAGAATTC

Determination»⁴, основанном на программном обеспечении, написанном Dan Katzel [17].

Методика НПС генома ротавирусов подробно описана в статье E. Faizuloev и соавт. [18].

Идентификационные номера GenBank (NCBI)

Нуклеотидные последовательности, соответствующие 10 сегментам генома изолятов Moscow-40/2020 (G3P[8]I2) и Moscow-1P/2015 (G4P[6]I1), депонированы в GenBank под номерами MW558493–MW558502 и MT876633–MT876642 соответственно. Частичные последовательности трех других штаммов с генотипом G3P[8]I2 были депонированы под номерами MT648671, MT648671, MT648671 для VP7 и MT814324, MT814326 для VP4.

Филогенетический анализ

Построение филогенетических деревьев проводили в программе MEGA-X [19] методом максимального правдоподобия (двухпараметрическая модель Kimura [20]). Bootstrap-анализ осуществляли на основе 1000 репликаций. В качестве референсных использовали штаммы РВА, рекомендованные Рабочей группой по таксономии ротавирусов [3], а также штаммы, имеющие, по данным BLAST-анализа, не менее чем 99,5% сходство с исследуемыми штаммами.

Результаты

Всего на наличие РНК или антигена РВА было проанализировано 289 фекальных образцов, собранных у детей, госпитализированных в стационар с симптомами острого гастроэнтерита. В 131 (45%) случае была обнаружена РНК, которую в дальнейшем использовали для G/[P]-генотипирования методом ОТ-ПЦР-РВ и/или секвенированием. В 125 случаях (95,4%) был определен G/[P]-генотип РВА,

² URL: <https://github.com/lioj/bioinformatics/blob/master/py/classificationStat.py>

³ URL: <https://github.com/lioj/bioinformatics/blob/master/py/bam2consensus.py>

⁴ URL: <https://www.viprbrc.org/brc/rvaGenotyper.sp?method=S&howCleanInputPage&decorator=reo>

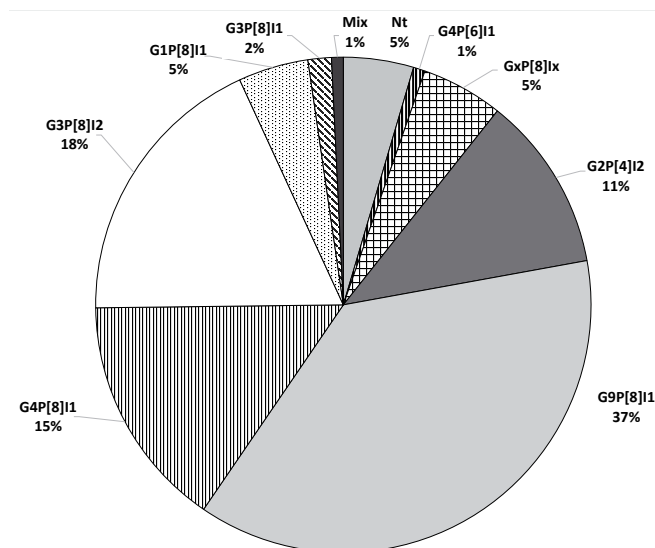


Рис. 1. Распределение *G/[P]*-генотипов РВА, выделенных из 131 клинического образца в 2015–2020 гг.

GxP[8]Ix — частично типированные РВА; Mix — смешанные генотипы; Nt — нетипированные образцы.

Fig. 1. Distribution of RVA *G/[P]*-genotypes isolated from 131 clinical samples in 2015–2020.

GxP[8]Ix — partially typed PVA; Mix — mixed genotypes; Nt — non-typed samples.

в 7 (5,3%) случаях РВА был типирован только по гену *P*, а для 6 (4,6%) образцов генотип установить не удалось.

Генетический состав исследованных штаммов РВА представлен на **рис. 1**. В 2015–2020 гг. штаммы РВА с генотипом *G9P[8]I1* доминировали в общей структуре (37%), второе место занимали *G3P[8]I2* (новый DS-1-подобный штамм) — 18%, далее — *G4P[8]I1* (15%), *G2P[4]I2* (11%), *G1P[8]I1* (5%), *G3P[8]I1* (2%). Семь (5%) штаммов, типированных только по гену *P*, относились к варианту гена *P[8]*. Также были обнаружены единичный случай смешанной инфекции двумя генотипами (*G9P[8]I1* и *G2P[4]I2*) и редкий штамм с генотипом *G4P[6]I1*.

На **рис. 2** представлено распределение выявленных в Московском регионе генотипов РВА по годам. Доля генотипа *G9P[8]I1* в последние годы значительно возросла, и в 2015–2020 гг. варьировала в пределах 36–41%. В то же время частота встречаемости генотипов *G4P[8]I1* снизилась с 38 до 9%, а частота встречаемости генотипа *G2P[4]I2* выросла до 14%.

Важно отметить, что для *G/[P]*-генотипирования некоторых штаммов с генотипом *GxP[8]I2* требовалось частичное секвенирование генов белков VP7 (*G*) и VP4 (*P*), поскольку лабораторной тест-системой на основе ОТ-ПЦР-РВ их *G/[P]*-генотип установить не удалось [12]. Секвенирование и филогенетический анализ *G* и *P* генов РВА (номера GenBank: MT648671, MT648671, MT648671 для гена *G* и MT814324, MT814326 для гена *P*) в

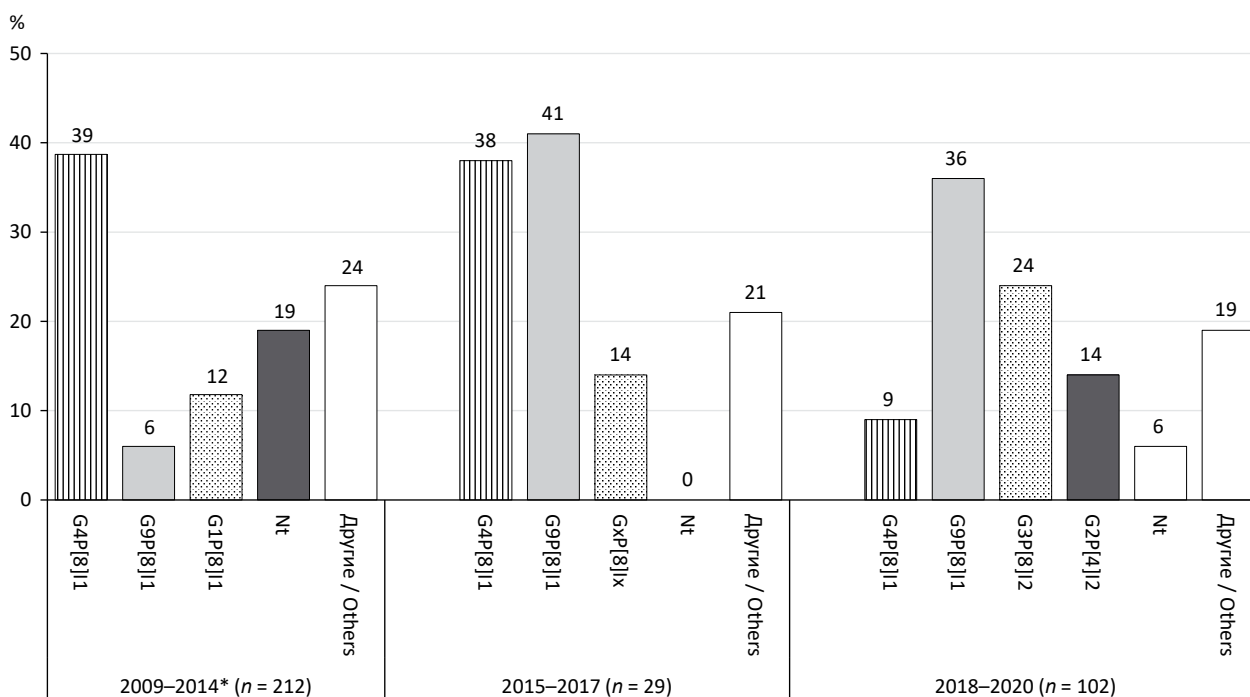


Рис. 2. Распространение *G/[P]*-генотипов, выявленных в Москве за 10 лет наблюдения (2009–2020 гг.) [12].

Nt — нетипированные образцы.

Fig. 2. Prevalence of *G/[P]*-genotypes detected in Moscow during the 10-year monitoring period (2009–2020) [12].

Nt — non-typed samples.

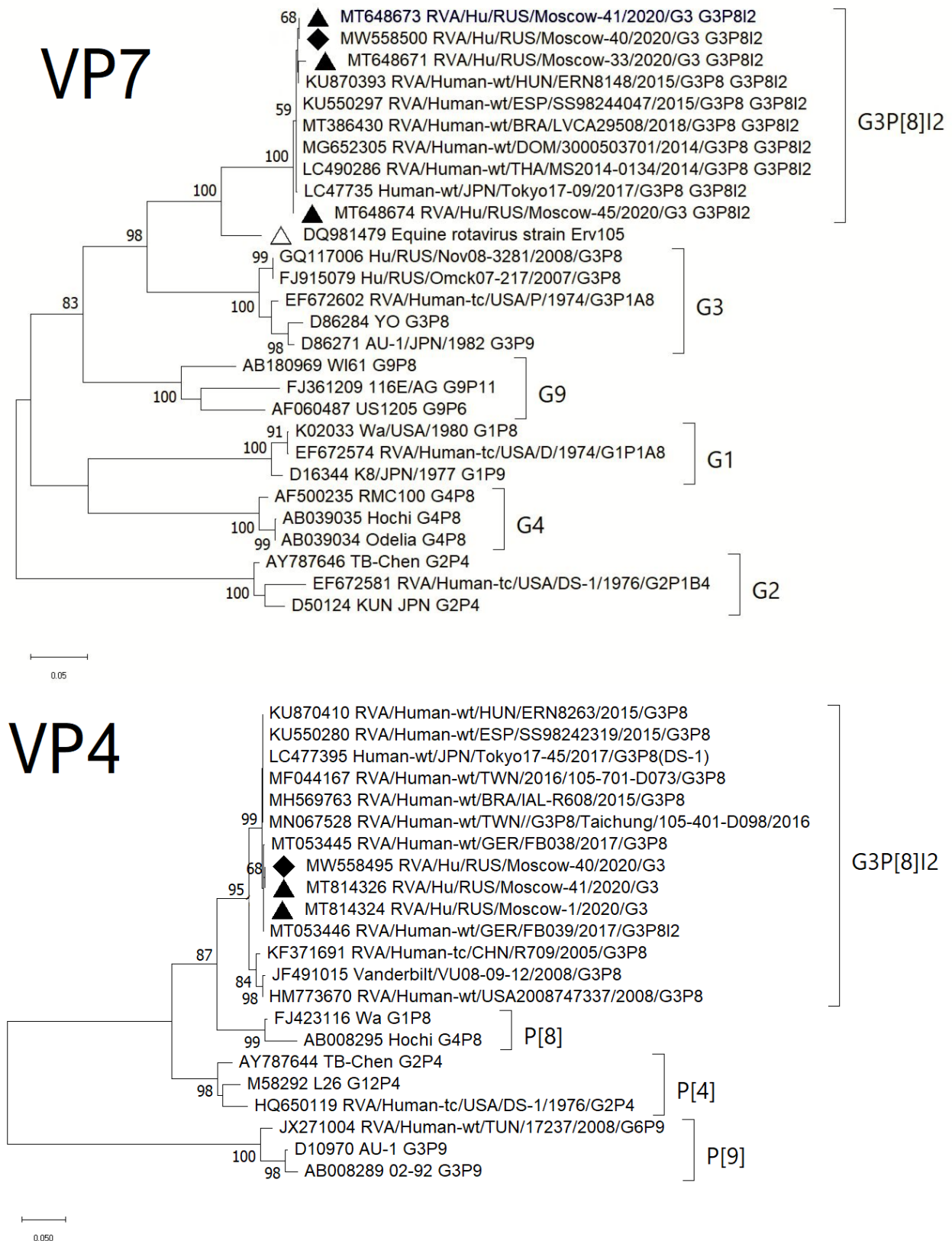


Рис. 3. Филогенетические деревья, основанные на секвенированных генах белков VP4 и VP7 нового штамма *G3P[8]I2*.

▲ — сегменты, секвенированные по Сэнгеру; ◆ — ген, секвенированный методом НПС; △ — ген белка VP7 РВА лошади.
 Для обозначения штаммов использовался идентификационный номер GenBank, названия штаммов и *G/[P]*-генотип.

Fig. 3. Phylogenetic trees based on the sequenced genes of the VP4 and VP7 proteins of the new *G3P[8]I2* strain.

▲ — segments sequenced using the Sanger technique; ◆ — the gene sequenced using the NPS technique; △ — the equine RVA VP7 gene.
 The respective GenBank accession number, name of strains and *G/[P]*-genotype were used for designation of strains.

Таблица 2. Результаты нанопорового секвенирования генома штаммов РВА с генотипами *G3P[8]I2* и *G4P[6]I1*
Table 2. Results of nanopore sequencing of the genome of RVA strains with *G3P[8]I2* and *G4P[6]I1* genotypes

Сегмент Segment	Вирусный белок Viral protein	<i>G4P[6]I1</i>			<i>G3P[8]I2</i>		
		количество прочтений number of reads	покрытие сегмента, % segment coverage, %	генотип genotype	количество прочтений number of reads	покрытие сегмента, % segment coverage, %	генотип genotype
1	VP1	1372	100	R1	12 792	100	R2
2	VP2	3795	100	C1	11 193	100	C2
3	VP3	1995	100	M1	–	–	Mx
4	VP4	633	20	P[6]	2785	100	P[8]
5	NSP1	546	100	A1	53 841	100	A2
6	VP6	15 187	100	I1	16 479	100	I2
7	NSP3	14 566	100	T1	80 554	100	T2
8	NSP2	175	36	N1	40 022	100	N2
9	VP7	1465	100	G4	25 059	100	G3
10	NSP4	–	–	Ex	10 222	100	E2
11	NSP5/6	77	100	H1	11 351	100	H2

образцах с обнаруженным *GxP[8]I2* показали, что они принадлежат к генотипу *G3P[8]I2* (рис. 3). Выявлено, что отсутствие сигнала при генотипировании с помощью ОТ-ПЦР-РВ вызвано несоответствием нуклеотидов между геном *VP7* генотипа *G3P[8]I2* и соответствующим зондом. На нетипируемых образцах с генотипом *GxP[8]I2* была проведена моноспецифическая ПЦР с праймерами к *G3* и электрофоретической детекцией, которая выявила ампликоны ожидаемой подвижности во всех образцах (данные не представлены), что подтвердило их принадлежность к генотипу *G3P[8]I2*.

BLAST-анализ и филогенетический анализ продемонстрировали сходство секвенированных генов *VP7* и *VP4* с аналогичными генами РВА новой G3-DS-1-подобной констелляции, выявленной по всему миру. Схожие G3-DS-1-подобные штаммы были обнаружены в Австралии (2013) [21], Испании (2014–2015) [22], Венгрии (2016) [23], Бразилии (2016) [24], Индонезии (2016) [25], России (2019) [28] и в других странах (рис. 3).

Кроме того, было проведено НПС изолята Moscow-40/2020 с генотипом *G3P[8]I2* (табл. 2), в результате которого были идентифицированы варианты генов 10 сегментов генома (номера GenBank MW558493–MW558502) и выявлена высокая (91,0–99,8%) степень сходства консенсусной последовательности с референсным штаммом RVA/Human-wt/THA/SKT-281/2013/G3P[8] (номера GenBank LC086714–LC086724).

Редкий штамм *Moscow-1P/2015* с генотипом *G4P[6]I1* был обнаружен в клиническом образце, взятом у 8-летнего пациента в 2015 г. Методом ПЦР-РВ удалось установить только вариант гена *P[6]*. Секвенирование методами Сэнгера и НПС позволило установить генотип этого штамма по 10

генам: *G4-P6-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-Ex-H1* (номера GenBank MT876633–MT876642, MG271938), что соответствует 81,7% генома (табл. 2).

Филогенетический анализ генов *VP7*, *VP6* и *VP4* штамма *Moscow-1P/2015* (рис. 4) демонстрирует высокую степень сходства генов анализируемого образца с генами РВА свиней (номера GenBank: *VP4* — KX363402, MK227950, KX363435, MK227948; *VP6* — MK227391, MK227402, KX363414, MG066585, KJ126830; *VP7* — JX498957, JX498956, MK227392, MN133419, MN133444) либо штаммов РВА (штамм *RVA/Human-wt/CHN/R1954/2013/G4P[6]*, номера GenBank: KF726066–KF726076, KF726056), выделенных из фекалий человека, но имеющих доказанное происхождение от РВА свиней [7]. BLAST-анализ остальных 7 генов также демонстрирует высокую степень сходства (92–98%) нуклеотидной последовательности со штаммами РВА свиней. Таким образом, филогенетический анализ свидетельствует о происхождении штамма *G4P[6]* от РВА свиней.

Обсуждение

Полученные нами результаты свидетельствуют о существенных изменениях, произошедших в «генетическом ландшафте» РВА, циркулирующих в московском регионе. Согласно данным предыдущих исследований [12, 26], до 2015 г. большинство генотипированных РВА относились к генотипу *G4P[8]*. Наши данные свидетельствуют о постепенном снижении встречаемости данного генотипа с 38 до 9% в 2017–2018 гг. При этом доля генотипа *G9P[8]* в московском регионе увеличилась до 36–41%. Это соответствует данным независимых исследований, проведенных в Москве [27, 28], Нижнем Новгороде [29, 30] и Оренбурге [31].

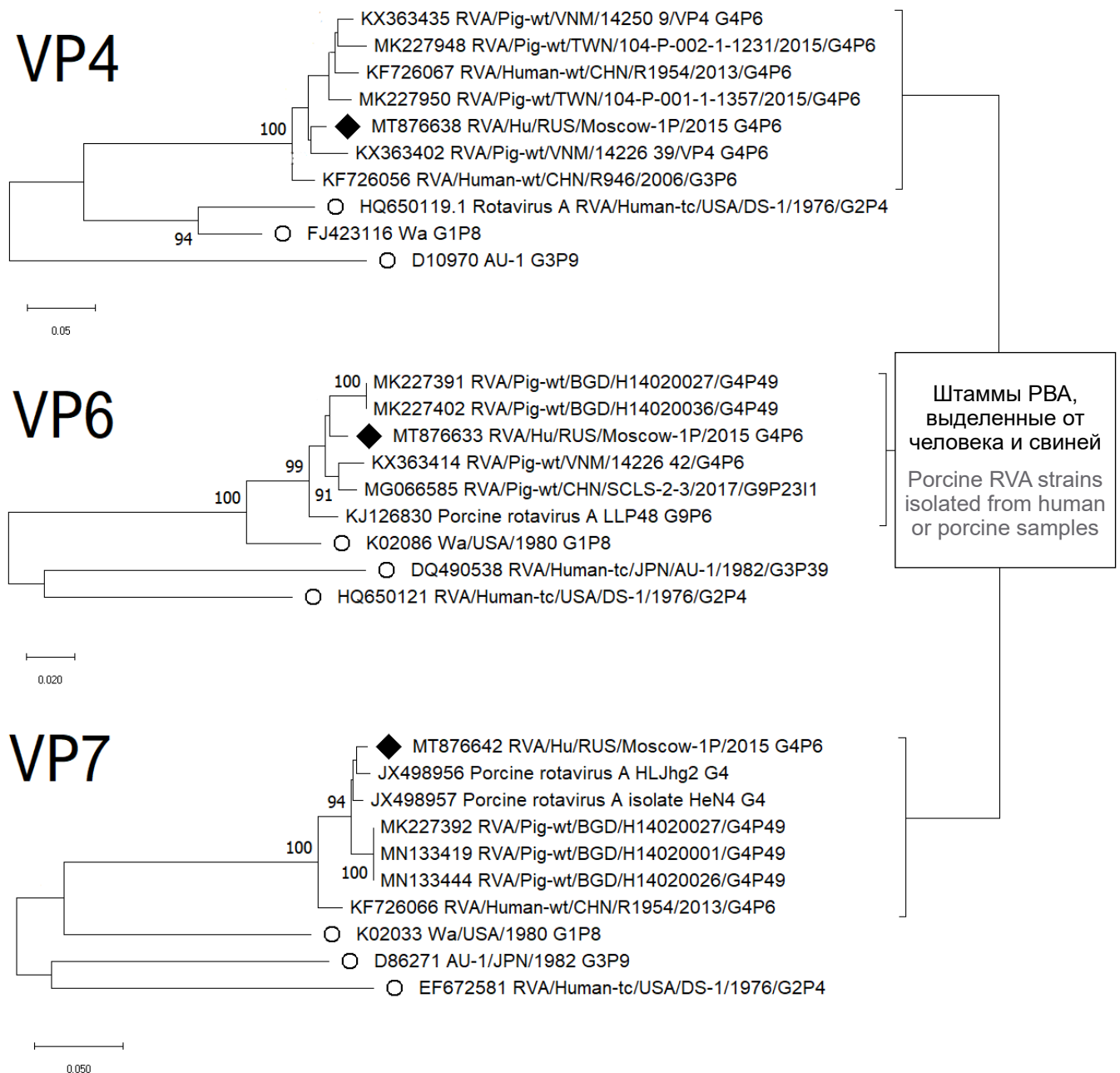


Рис. 4. Филогенетические деревья, основанные на секвенированных генах белков VP4, VP7 и VP6 РВА, штамма *G4P[6]I1* (отмечены знаком ◆), референсных штаммах (*Wa*, *AU-1*, *DS-1*) представителей трёх эволюционных линий РВА (отмечены знаком ○) и генов РВА свиного происхождения, наиболее филогенетически близких генам штамма *Moscow-1P/2015* согласно BLAST-анализу.

Для обозначения штаммов использовался номер GenBank, название штамма и *G/[P]*-генотип.

Fig. 4. Phylogenetic trees based on sequenced genes of RVA VP4, VP7, and VP6 proteins, strain *G4P[6]I1* (marked by ◆), reference strains (*Wa*, *AU-1*, *DS-1*) representatives of three evolutionary lines RVA (marked by ○) and RVA genes of porcine origin, phylogenetically most closely related to genes of the *Moscow-1P/2015* strain based on the BLAST analysis.

The respective GenBank number, name of the strain and *G/[P]*-genotype were used for designation of strains.

В нашем исследовании изучались клинические образцы, собранные у детей, госпитализированных с острым гастроэнтеритом. Реальный «генетический ландшафт» и распределение генотипов РВА, циркулирующих в Москве, могут отличаться от полученных данных, поскольку мы не включали в исследование пациентов с лёгким или умеренным

гастроэнтеритом, не требующих госпитализации. Ранее в исследовании Е.Р. Мескиной показано, что тяжёлое течение ротавирусного гастроэнтерита может быть ассоциировано с конкретными генотипами РВА [32].

Особый интерес представляет штамм с генотипом *G3P[8]I2*, впервые выявленный нами в

2018 г. Его доля в общей структуре РВА составила 18%; по этому показателю он уступает только генотипу *G9P[8]II* (рис. 1). По результатам секвенирования и филогенетического анализа (рис. 3) мы предположили, что *G3P[8]I2* является родственным реассортантному штамму, впервые выявленному в Таиланде в 2013 г. [25] и широко распространившемуся в последние годы на территории Европы, Азии и Австралии [7, 22, 33, 34]. Данный штамм имеет *DS-1*-подобную констелляцию генов (*G3-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2*), за исключением гена белка VP7, который в обычных для данной констелляции случаях представлен геновариантом *G2*, в то время как для геноварианта *G3* более характерна *Wa*-подобная констелляция [35]. По предположению некоторых исследователей [21, 22, 25], штамм *G3P[8]I2* образовался в результате реассортации человеческого *DS-1*-подобного штамма и лошадиного штамма *Erv105* (номер GenBank: DQ981479.1), поскольку с геном белка VP7 этого штамма выявлено наибольшее сходство. При выполнении настоящего исследования мы, как и некоторые другие научные группы [22], столкнулись с невозможностью генотипировать новый штамм вируса методом типоспецифической ПЦР. Тест-система собственной разработки, как и праймеры, предложенные ВОЗ [4], не смогли выявить ген белка VP7 штамма *G3P[8]I2*. В то же время секвенирование по Сэнгеру и проведённый BLAST-анализ позволили достоверно определить геновариант как *G3*. Из-за точечных мутаций в генах *VP4* и *VP7* типоспецифические праймеры ПЦР всё чаще не могут идентифицировать их вариант [17]. Этот факт повышает значимость методов секвенирования в эпидемиологическом мониторинге РВИ.

Ещё один нетипичный штамм — *Moscow-IP/2015* с генотипом *G4P[6]II*, выявленный в единичном случае, — вероятно, также является результатом реассортации РВА человека и животных либо полностью имеет животное происхождение. В данном случае не ясно, произошло ли заражение данным штаммом в результате передачи от человека к человеку, либо человек заразился вирусом от животных. По данным литературы, доля РВА с генотипом *G4P[6]II* в общей структуре выявляемых у человека штаммов РВА невысока [6, 38]. Это может быть свидетельством какого-то ограничения для распространения *G4P[6]II* в человеческой популяции, например видового барьера, если предположить, что это штамм животного происхождения. В то же время следует принимать во внимание, что в большинстве подобных исследований обследованы дети, госпитализированные с ротавирусным энтеритом, тогда как случаи лёгкого протекания заболевания не рассматриваются. Поэтому мы не можем по этим данным судить о реальной распространённости того или иного штамма РВА.

Штаммы РВА свиней филогенетически близки штаммам ротавирусов человека [34], поэтому сложно установить, является ли исследуемый штамм следствием прямой передачи или реассортации [37–39]. Случаи реассортации или прямой межвидовой передачи РВА с генотипом *G4P[6]II* уже были описаны ранее как в Азии [6, 25, 40], так и в Европе [36].

Заключение

В 2015–2020 гг. в генетической структуре РВА, циркулирующих на территории московского региона, произошли существенные изменения: снизилась встречаемость генотипа *G4P[8]II*, который занимал лидирующую роль в предыдущие годы; в то же время выросло количество случаев госпитализации с РВИ, вызванной штаммом *G9P[8]II*. Также в исследуемый период отмечено появление штаммов РВА предположительно животного происхождения как в единичных случаях (*G4P[6]II*), так и в значительном количестве (реассортантный *G3P[8]I2*), что является свидетельством важной роли межвидовой трансмиссии в эволюции РВА, патогенных для человека. Проведённое нами исследование подчёркивает необходимость постоянного мониторинга РВИ. Эпидемиологический мониторинг РВИ позволяет своевременно выявлять появление новых реассортантов РВА животных и человека, потенциально ускользающих от поствакцинального иммунитета. Выявленные нами и рядом авторов штаммы РВА, не типизируемые методом ОТ-ПЦР-РВ (генотипы *G3P[8]I2* и *G4P[6]II*) [6, 22], подчёркивают необходимость выборочного секвенирования генов РВА и оптимизации последовательностей типоспецифических праймеров для ОТ-ПЦР-РВ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Troeger C., Khalil I.A., Rao P.C., Cao S., Blacker B.F., Ahmed T., et al. Rotavirus vaccination and the global burden of rotavirus diarrhea among children younger than 5 years. *JAMA Pediatr.* 2018; 172(10): 958–65. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.1960>
2. Hoog M.L.A., Vesikari T., Giaquinto C., Huppertz H.I., Martinon-Torres F., Bruijning-Verhagen P. Report of the 5th European expert meeting on rotavirus vaccination (EEROVAC). *Hum. Vaccin. Immunother.* 2018; 14(4): 1027–34. <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1412019>
3. Matthijnssens J., Ciarlet M., Rahman M., Attoui H., Banyai K., Estes M.K., et al. Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. *Arch. Virol.* 2008; 153(8): 1621–9. <https://doi.org/10.1007/s00705-008-0155-1>
4. WHO. Manual of rotavirus detection and characterization methods. Geneva; 2009. Available at: <https://www.who.int/vaccines-documents>
5. Doro R., Laszlo B., Martella V., Leshem E., Gentsch J., Parashar U., et al. Review of global rotavirus strain prevalence data from six years post vaccine licensure surveillance: is there evidence of strain selection from vaccine pressure? *Infect. Genet. Evol.* 2014; 28: 446–61. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.08.017>

6. Zhou X., Wang Y.H., Ghosh S., Tang W.F., Pang B.B., Liu M.Q., et al. Genomic characterization of G3P[6], G4P[6] and G4P[8] human rotaviruses from Wuhan, China: Evidence for interspecies transmission and reassortment events. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 33: 55–71. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.04.010>
7. Salamunova S., Jackova A., Csank T., Mandelik R., Novotny J., Beckova Z., et al. Genetic variability of pig and human rotavirus group A isolates from Slovakia. *Arch. Virol.* 2020; 165(2): 463–70. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04504-6>
8. Doro R., Farkas S.L., Martella V., Banyai K. Zoonotic transmission of rotavirus: surveillance and control. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2015; 13(11): 1337–50. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1089171>
9. Velasquez D.E., Jiang B. Evolution of P[8], P[4], and P[6] VP8* genes of human rotaviruses globally reported during 1974 and 2017: possible implications for rotavirus vaccines in development. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2019; 15(12): 3003–8. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1619400>
10. Hungerford D., Vivancos R., Read J.M., Iturriza-Gomicron M., French N., Cunliffe N.A. Rotavirus vaccine impact and socioeconomic deprivation: an interrupted time-series analysis of gastrointestinal disease outcomes across primary and secondary care in the UK. *BMC Med.* 2018; 16(1): 10. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0989-z>
11. Freeman M.M., Kerin T., Hull J., McCaustland K., Gentsch J. Enhancement of detection and quantification of rotavirus in stool using a modified real-time RT-PCR assay. *J. Med. Virol.* 2008; 80(8): 1489–96. <https://doi.org/10.1002/jmv.21228>
12. Kiseleva V., Faizuloev E., Meskina E., Marova A., Oksanich A., Samartseva T., et al. Molecular-genetic characterization of human rotavirus strains circulating in Moscow, Russia (2009–2014). *Virol. Sin.* 2018; 33(4): 304–13. <https://doi.org/10.1007/s12250-018-0043-0>
13. Iturriza-Gomara M., Isherwood B., Desselberger U., Gray J. Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J. Virol.* 2001; 75(8): 3696–705. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.8.3696-3705.2001>
14. Simmonds M.K., Armah G., Asmah R., Banerjee I., Damanika S., Esona M., et al. New oligonucleotide primers for P-typing of rotavirus strains: Strategies for typing previously untypeable strains. *J. Clin. Virol.* 2008; 42(4): 368–73. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.02.011>
15. Froussard P. rPCR: a powerful tool for random amplification of whole RNA sequences. *PCR Methods Appl.* 1993; 2(3): 185–90. <https://doi.org/10.1101/gr.2.3.185>
16. Li H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics.* 2018; 34(18): 3094–100. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
17. Maes P., Matthijnsens J., Rahman M., Van Ranst M. RotaC: a web-based tool for the complete genome classification of group A rotaviruses. *BMC Microbiol.* 2009; 9: 238. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-238>
18. Faizuloev E., Mintaev R., Petruscha O., Marova A., Smirnova D., Ammour Y., et al. New approach to genetic characterization of group A rotaviruses by the nanopore sequencing method. *J. Virol. Methods.* 2021; 292: 114114. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2021.114114>
19. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6): 1547–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
20. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 1980; 16(2): 111–20. <https://doi.org/10.1007/BF01731581>
21. Cowley D., Donato C.M., Roczo-Farkas S., Kirkwood C.D. Emergence of a novel equine-like G3P[8] inter-genogroup reassortant rotavirus strain associated with gastroenteritis in Australian children. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(2): 403–10. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000352>
22. Arana A., Montes M., Jere K.C., Alkorta M., Iturriza-Gomara M., Cilla G. Emergence and spread of G3P[8] rotaviruses possessing an equine-like VP7 and a DS-1-like genetic backbone in the Basque Country (North of Spain), 2015. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 44: 137–44. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.06.048>
23. Doro R., Marton S., Bartokne A.H., Lengyel G., Agocs Z., Jakab F., et al. Equine-like G3 rotavirus in Hungary, 2015 — Is it a novel intergenogroup reassortant pandemic strain? *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 2016; 63(2): 243–55. <https://doi.org/10.1556/030.63.2016.2.8>
24. Guerra S.F.S., Soares L.S., Lobo P.S., Penha Junior E.T., Sousa Junior E.C., Bezerra D.A.M., et al. Detection of a novel equine-like G3 rotavirus associated with acute gastroenteritis in Brazil. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(12): 3131–8. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000626>
25. Komoto S., Tacharoenmuang R., Guntapong R., Ide T., Haga K., Katayama K., et al. Emergence and characterization of unusual DS-1-Like G1P[8] rotavirus strains in children with diarrhea in Thailand. *PLoS One.* 2015; 10(11): e0141739. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141739>
26. Kaira A.N., Fayzuloyev E.B., Lavrov V.F., Svitich O.A., Solomay T.V., Nikonova A.A., et al. Epidemiological trends of morbidity and issues of rotavirus vaccination at the present stage. *Sanitary Doctor.* 2020; 6: 16–25. <https://doi.org/10.33920/med-08-2006-02>
27. Ivashchkin A.A., Yuzhakov A.G., Grebennikova T.V., Yuzhakova K.A., Kulikova N.Y., Kisteneva L.B., et al. Genetic diversity of group A rotaviruses in Moscow in 2018–2019. *Arch. Virol.* 2020; 165(3): 691–702. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04534-5>
28. Yuzhakov G., Yuzhakova K., Kulikova N., Kisteneva L., Cherepushkin S., Smetanina S., et al. Prevalence and genetic diversity of group A rotavirus genotypes in Moscow (2019–2020). *Pathogens.* 2021; 10: 674. <https://doi.org/10.3390/pathogens10060674>
29. Sashina T.A., Morozova O.V., Epifanova N.V., Novikova N.A. Predominance of new G9P[8] rotaviruses closely related to Turkish strains in Nizhny Novgorod (Russia). *Arch. Virol.* 2017; 162(8): 2387–92. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3364-7>
30. Новикова Н.А., Сашина Т.А., Солнцев Л.А., Епифанова Н.В., Кашников А.Ю., Погодина Л.В. и др. Проявление эпидемического процесса ротавирусного процесса в Нижнем Новгороде в предвакцинальный период. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2017; 94(5): 46–52. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-46-52>
31. Денисюк Н.Б. Генетическая характеристика ротавирусов группы А, циркулирующих в Оренбургском регионе в сезон 2016–2017 гг. *Детские инфекции.* 2017; 16(4): 42–5. <https://doi.org/10.22627/2072-8107-2017-16-4-42-45>
32. Мескина Е.Р., Ушакова А.Ю., Файзулов Е.Б., Бахтяров Г.Н., Киселева В.В. Сравнительная характеристика гастроэнтерита, вызванного ротавирусами генотипов G4P[8] и G9P[8], у детей, госпитализированных в стационар г. Москвы (эпидсезон 2012–2013 гг.). *Инфекционные болезни.* 2017; 15(1): 23–8. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2017-1-23-28>
33. Katz E.M., Esona M.D., Betrapally N.S., De La Cruz De Leon L.A., Neira Y.R., Rey G.J., et al. Whole-gene analysis of inter-genogroup reassortant rotaviruses from the Dominican Republic: Emergence of equine-like G3 strains and evidence

- of their reassortment with locally-circulating strains. *Virology*. 2019; 534: 114–31.
<https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.06.007>
34. Fujii Y., Oda M., Somura Y., Shinkai T. Molecular characteristics of novel mono-reassortant G9P[8] rotavirus strains possessing the NSP4 gene of the E2 genotype detected in Tokyo, Japan. *Jpn J. Infect. Dis.* 2020; 73(1): 26–35.
<https://doi.org/10.7883/yoken.JIID.2019.211>
35. McDonald S.M., Matthijnsens J., McAllen J.K., Hine E., Overton L., Wang S., et al. Evolutionary dynamics of human rotaviruses: balancing reassortment with preferred genome constellations. *PLoS Pathog.* 2009; 5(10): e1000634.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000634>
36. Papp H., Borzak R., Farkas S., Kisfalvi P., Lengyel G., Molnar P., et al. Zoonotic transmission of reassortant porcine G4P[6] rotaviruses in Hungarian pediatric patients identified sporadically over a 15 year period. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 19: 71–80.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.013>
37. Esona M.D., Geyer A., Banyai K., Page N., Aminu M., Armah G.E., et al. Novel human rotavirus genotype G5P[7] from child with diarrhea, Cameroon. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(1): 83–6. <https://doi.org/10.3201/eid1501.080899>
38. Wang Y.H., Kobayashi N., Nagashima S., Zhou X., Ghosh S., Peng J.S., et al. Full genomic analysis of a porcine-bovine reassortant G4P[6] rotavirus strain R479 isolated from an infant in China. *J. Med. Virol.* 2010; 82(6): 1094–102.
<https://doi.org/10.1002/jmv.21760>
39. Zeller M., Patton J.T., Heylen E., De Coster S., Ciarlet M., Van Ranst M., et al. Genetic analyses reveal differences in the VP7 and VP4 antigenic epitopes between human rotaviruses circulating in Belgium and rotaviruses in Rotarix and RotaTeq. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(3): 966–76.
<https://doi.org/10.1128/JCM.05590-11>
40. Imagawa T., Saito M., Yamamoto D., Saito-Obata M., Masago Y., Ablola A.C., et al. Genetic diversity of species A rotaviruses detected in clinical and environmental samples, including porcine-like rotaviruses from hospitalized children in the Philippines. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 85: 104465.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104465>
- REFERENCES
1. Troeger C., Khalil I.A., Rao P.C., Cao S., Blacker B.F., Ahmed T., et al. Rotavirus Vaccination and the Global Burden of Rotavirus Diarrhea Among Children Younger Than 5 Years. *JAMA Pediatr.* 2018; 172(10): 958–65.
<https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.1960>
2. Hoog M.L.A., Vesikari T., Giaquinto C., Huppertz H.I., Martinon-Torres F., Brujning-Verhagen P. Report of the 5th European expert meeting on rotavirus vaccination (EEROVAC). *Hum. Vaccin. Immunother.* 2018; 14(4): 1027–34.
<https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1412019>
3. Matthijnsens J., Ciarlet M., Rahman M., Attoui H., Banyai K., Estes M.K., et al. Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. *Arch. Virol.* 2008; 153(8): 1621–9.
<https://doi.org/10.1007/s00705-008-0155-1>
4. Manual of rotavirus detection and characterization methods. World Health Organization; 2009.
Available at: <https://www.who.int/vaccines-documents/>
5. Doro R., Laszlo B., Martella V., Leshem E., Gentsch J., Parashar U., et al. Review of global rotavirus strain prevalence data from six years post vaccine licensure surveillance: is there evidence of strain selection from vaccine pressure? *Infect. Genet. Evol.* 2014; 28: 446–61.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.08.017>
6. Zhou X., Wang Y.H., Ghosh S., Tang W.F., Pang B.B., Liu M.Q., et al. Genomic characterization of G3P[6], G4P[6] and G4P[8] human rotaviruses from Wuhan, China: Evidence for interspecies transmission and reassortment events. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 33: 55–71.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.04.010>
7. Salamunova S., Jackova A., Csank T., Mandelik R., Novotny J., Beckova Z., et al. Genetic variability of pig and human rotavirus group A isolates from Slovakia. *Arch. Virol.* 2020; 165(2): 463–70. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04504-6>
8. Doro R., Farkas S.L., Martella V., Banyai K. Zoonotic transmission of rotavirus: surveillance and control. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2015; 13(11): 1337–50.
<https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1089171>
9. Velasquez D.E., Jiang B. Evolution of P[8], P[4], and P[6] VP8* genes of human rotaviruses globally reported during 1974 and 2017: possible implications for rotavirus vaccines in development. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2019; 15(12): 3003–8.
<https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1619400>
10. Hungerford D., Vivancos R., Read J.M., Iturriza-Gomara M., French N., Cunliffe N.A. Rotavirus vaccine impact and socioeconomic deprivation: an interrupted time-series analysis of gastrointestinal disease outcomes across primary and secondary care in the UK. *BMC Med.* 2018; 16(1): 10.
<https://doi.org/10.1186/s12916-017-0989-z>
11. Freeman M.M., Kerin T., Hull J., McCaustland K., Gentsch J. Enhancement of detection and quantification of rotavirus in stool using a modified real-time RT-PCR assay. *J. Med. Virol.* 2008; 80(8): 1489–96. <https://doi.org/10.1002/jmv.21228>
12. Kiseleva V., Faizuloev E., Meskina E., Marova A., Oksanich A., Samartseva T., et al. Molecular-genetic characterization of human rotavirus strains circulating in Moscow, Russia (2009–2014). *Virol. Sin.* 2018; 33(4): 304–13.
<https://doi.org/10.1007/s12250-018-0043-0>
13. Iturriza-Gomara M., Isherwood B., Desselberger U., Gray J. Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. *J. Virol.* 2001; 75(8): 3696–705.
<https://doi.org/10.1128/JVI.75.8.3696-3705.2001>
14. Simmonds M.K., Armah G., Asmah R., Banerjee I., Damanika S., Esona M., et al. New oligonucleotide primers for P-typing of rotavirus strains: Strategies for typing previously untypeable strains. *J. Clin. Virol.* 2008; 42(4): 368–73.
<https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.02.011>
15. Froussard P. rPCR: a powerful tool for random amplification of whole RNA sequences. *PCR Methods Appl.* 1993; 2(3): 185–90.
<https://doi.org/10.1101/gr.2.3.185>
16. Li H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics.* 2018; 34(18): 3094–100.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
17. Maes P., Matthijnsens J., Rahman M., Van Ranst M. RotaC: a web-based tool for the complete genome classification of group A rotaviruses. *BMC Microbiol.* 2009; 9: 238.
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-238>
18. Faizuloev E., Mintaev R., Petrusha O., Marova A., Smirnova D., Ammour Y., et al. New approach to genetic characterization of group A rotaviruses by the nanopore sequencing method. *J. Virol. Methods.* 2021; 292: 114114.
<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2021.114114>
19. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6): 1547–9.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
20. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 1980; 16(2): 111–20.
<https://doi.org/10.1007/BF01731581>
21. Cowley D., Donato C.M., Roczo-Farkas S., Kirkwood C.D. Emergence of a novel equine-like G3P[8] inter-genogroup reassortant rotavirus strain associated with gastroenteritis in Australian children. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(2): 403–10.
<https://doi.org/10.1099/jgv.0.000352>

22. Arana A., Montes M., Jere K.C., Alkorta M., Iturriza-Gomara M., Cilla G. Emergence and spread of G3P[8] rotaviruses possessing an equine-like VP7 and a DS-1-like genetic backbone in the Basque Country (North of Spain), 2015. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 44: 137–44. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.06.048>
23. Doro R., Marton S., Bartokne A.H., Lengyel G., Agocs Z., Jakab F., et al. Equine-like G3 rotavirus in Hungary, 2015 — is it a novel intergenogroup reassortant pandemic strain? *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 2016; 63(2): 243–55. <https://doi.org/10.1556/030.63.2016.2.8>
24. Guerra S.F.S., Soares L.S., Lobo P.S., Penha Junior E.T., Sousa Junior E.C., Bezerra D.A.M., et al. Detection of a novel equine-like G3 rotavirus associated with acute gastroenteritis in Brazil. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(12): 3131–8. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000626>
25. Komoto S., Tacharoenmuang R., Guntapong R., Ide T., Haga K., Katayama K., et al. Emergence and characterization of unusual DS-1-like G1P[8] rotavirus strains in children with diarrhea in Thailand. *PLoS One.* 2015; 10(11): e0141739. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141739>
26. Kaira A.N., Fayzuloyev E.B., Lavrov V.F., Svitich O.A., Solomay T.V., Nikonova A.A., et al. Epidemiological trends of morbidity and issues of rotavirus vaccination at the present stage. *Sanitary Doctor.* 2020; 6: 16–25. <https://doi.org/0.33920/med-08-2006-02>
27. Ivashechkin A.A., Yuzhakov A.G., Grebennikova T.V., Yuzhakova K.A., Kulikova N.Y., Kisteneva L.B., et al. Genetic diversity of group A rotaviruses in Moscow in 2018–2019. *Arch. Virol.* 2020; 165(3): 691–702. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04534-5>
28. Yuzhakov G., Yuzhakova K., Kulikova N., Kisteneva L., Cherepushkin S., Smetanina S., et al. Prevalence and genetic diversity of group A rotavirus genotypes in Moscow (2019–2020). *Pathogens.* 2021; 10: 674. <https://doi.org/10.3390/pathogens10060674>
29. Sashina T.A., Morozova O.V., Epifanova N.V., Novikova N.A. Predominance of new G9P[8] rotaviruses closely related to Turkish strains in Nizhny Novgorod (Russia). *Arch. Virol.* 2017; 162(8): 2387–92. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3364-7>
30. Novikova N.A., Sashina T.A., Solntsev L.A., Epifanova N.V., Kashnikov A.Yu., Pogodina L.V., et al. Manifestations of epidemic process of rotavirus infection in Nizhny Novgorod in pre-vaccination period. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2017; 94(5): 46–52. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-46-52> (in Russian)
31. Denisjuk N.B. Genetic characteristics of rotaviruses group A circulating in the Orenburg region in season 2016–2017. *Detskie infektsii.* 2017; 16(4): 42–5. <https://doi.org/10.22627/2072-8107-2017-16-4-42-45> (in Russian)
32. Meskina E.R., Ushakova A.Yu., Fayzuloyev E.B., Bakhtoyarov G.N., Kiseleva V.V. A Comparative characteristic of gastroenteritis associated with G4P[8] and G9P[8] genotype rotaviruses in children hospitalized in Moscow (2012–2013 epidemic season). *Infektsionnye bolezni.* 2017; 15(1): 23–8. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2017-1-23-28> (in Russian)
33. Katz E.M., Esona M.D., Betrapally N.S., De La Cruz De Leon L.A., Neira Y.R., Rey G.J., et al. Whole-gene analysis of inter-genogroup reassortant rotaviruses from the Dominican Republic: Emergence of equine-like G3 strains and evidence of their reassortment with locally-circulating strains. *Virology.* 2019; 534: 114–31. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.06.007>
34. Fujii Y., Oda M., Somura Y., Shinkai T. Molecular characteristics of novel mono-reassortant G9P[8] rotavirus strains possessing the NSP4 gene of the E2 genotype detected in Tokyo, Japan. *Jpn J. Infect. Dis.* 2020; 73(1): 26–35. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2019.211>
35. McDonald S.M., Matthijnssens J., McAllen J.K., Hine E., Overton L., Wang S., et al. Evolutionary dynamics of human rotaviruses: balancing reassortment with preferred genome constellations. *PLoS Pathog.* 2009; 5(10): e1000634. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000634>
36. Papp H., Borzak R., Farkas S., Kisfali P., Lengyel G., Molnar P., et al. Zoonotic transmission of reassortant porcine G4P[6] rotaviruses in Hungarian pediatric patients identified sporadically over a 15 year period. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 19: 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.013>
37. Esona M.D., Geyer A., Banyai K., Page N., Aminu M., Armah G.E., et al. Novel human rotavirus genotype G5P[7] from child with diarrhea, Cameroon. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(1): 83–6. <https://doi.org/10.3201/eid1501.080899>
38. Wang Y.H., Kobayashi N., Nagashima S., Zhou X., Ghosh S., Peng J.S., et al. Full genomic analysis of a porcine-bovine reassortant G4P[6] rotavirus strain R479 isolated from an infant in China. *J. Med. Virol.* 2010; 82(6): 1094–102. <https://doi.org/10.1002/jmv.21760>
39. Zeller M., Patton J.T., Heylen E., De Coster S., Ciarlet M., Van Ranst M., et al. Genetic analyses reveal differences in the VP7 and VP4 antigenic epitopes between human rotaviruses circulating in Belgium and rotaviruses in Rotarix and RotaTeq. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(3): 966–76. <https://doi.org/10.1128/JCM.05590-11>
40. Imagawa T., Saito M., Yamamoto D., Saito-Obata M., Masago Y., Ablola A.C., et al. Genetic diversity of species A rotaviruses detected in clinical and environmental samples, including porcine-like rotaviruses from hospitalized children in the Philippines. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 85: 104465. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104465>

Информация об авторах

Петруша Ольга Александровна[✉] — м.н.с. лаб. молекулярной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, petrusha.olga@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5022-7962>

Корчевая Екатерина Романовна — м.н.с. лаб. молекулярной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6417-3301>

Минтаев Рамиль Рафаилович — м.н.с. лаб. генетики РНК-содержащих вирусов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5398-3627>

Никонова Александра Александровна — к.б.н., зав. лаб. молекулярной биотехнологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9610-0935>

Исаков Игорь Юрьевич — м.н.с. лаб. молекулярной биотехнологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5742-6550>

Information about the authors

Olga A. Petrusha[✉] — junior researcher, Laboratory of molecular virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, petrusha.olga@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5022-7962>

Ekaterina R. Korchevaya — junior researcher, Laboratory of molecular virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6417-3301>

Ramil R. Mintaev — junior researcher, Laboratory of genetics of RNA viruses, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5398-3627>

Alexandra A. Nikonova — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of molecular biotechnology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9610-0935>

Igor Yu. Isakov — junior researcher, Laboratory of molecular biotechnology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5742-6550>

Мескина Елена Руслановна — д.м.н., зав. отд. детских инфекций отдела терапии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1960-6868>

Ушакова Анна Юрьевна — к.м.н., ассистент кафедры хирургии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-84387609>

Хадисова Марима Касумовна — к.м.н., н.с. отд. детских инфекций, отдел терапии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия. <https://orcid.org/0000-0001-8293-6643>

Зверев Виталий Васильевич — д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0017-1892>

Файзулов Евгений Бахтиерович — к.б.н., зав. лаб. молекулярной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7385-5083>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 12.11.2021;
принята к публикации 02.02.2022;
опубликована 28.02.2022

Elena R. Meskina — D. Sci. (Med.), Professor, Department of children's infections, Therapy department, M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1960-6868>

Anna Yu. Ushakova — Cand. Sci. (Med.), assistant, Department of children's infections, M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-84387609>

Marima K. Khadisova — Cand. Sci. (Med.), Department of children's infections, Therapy department, M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8293-6643>

Vitaly V. Zverev — D. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0017-1892>

Evgeny B. Faizuloev — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of molecular virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7385-5083>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 12.11.2021;
accepted for publication 02.02.2022;
published 28.02.2022

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-207>

Анализ факторов риска, определяющих проявление эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в пенитенциарной системе

Кондратова С.Е.[✉], Марченко А.Н.

Тюменский государственный медицинский университет, Тюмень, Россия

Аннотация

Введение. В Тюменской области уже более 10 лет отмечается устойчиво высокий уровень поражённости ВИЧ-инфекцией. Особняком среди рискованных групп по заражению ВИЧ стоит группа заключённых под стражу лиц. В обозначенной группе максимально сосредоточены потребители наркотических веществ, мужчины, имеющие половой контакт с мужчинами, работники коммерческого секса. Болезни, приобретённые в период отбывания срока наказания либо усугубившиеся в условиях лишения свободы, становятся проблемой не только освобождённых заключённых, но и сообщества за пределами пенитенциарной системы. С эпидемиологической точки зрения считается принципиально важным выявление в среде осуждённых лиц факторов, способствующих прогрессированию ВИЧ-инфекции с учётом их неравноценного значения среди заключённых и гражданского населения.

Цель исследования — выявление и оценка совокупности факторов риска, определяющей развитие эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в зоне высокой концентрации групп риска.

Материалы и методы. Применены методы эпидемиологического исследования, метод логистической регрессии пошагового включения.

Результаты. Наиболее сложная эпидемиологическая ситуация в местах лишения свободы в части выявления случаев ВИЧ-инфекции и поражённости ВИЧ среди осуждённых обозначилась с 2008 г. При этом эпидемиологическую обстановку ухудшали и высокие показатели смертности ВИЧ-инфицированных. При проведении исследования нами установлено, что вероятность летального исхода у осуждённых, инфицированных ВИЧ, ассоциирована с совокупностью параметров: мужской пол, парентеральный (наркотический) путь заражения ВИЧ, наличие сопутствующего заболевания — вирусного гепатита и заболевания органов грудной клетки.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, эпидемический процесс, пенитенциарная система, заключённые, факторы риска, летальный исход

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Тюменского государственного медицинского университета (протокол № 88 от 23.12.2019).

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

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

Для цитирования: Кондратова С.Е., Марченко А.Н. Анализ факторов риска, определяющих проявление эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в пенитенциарной системе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2022;99(1):20–27.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-207>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-207>

Analysis of risk factors affecting the HIV epidemic process in the penitentiary system

Svetlana E. Kondratova[✉], Alexander N. Marchenko

Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia

Abstract

Introduction. For more than 10 years, the Tumen Region has been reporting steadily high rates of HIV infection prevalence. Among the groups at risk for HIV infection, a special place is occupied by the group of incarcerated individuals. This group is mostly represented by drug users, men who have sex with men, commercial sex workers. Diseases acquired during imprisonment or exacerbated in a prison setting become a problem not only for released inmates, but also for communities outside the prison system. Epidemiologically, it is critically important to identify the prison-related factors contributing to HIV progression, considering their unequal significance among incarcerated individuals and civilian population.

The aim of the study is to identify and assess the risk factors affecting the HIV epidemic process in the high risk-group density areas.

Materials and methods. The study was performed using epidemiological study and stepwise logistic regression methods.

Results. Since 2008, the epidemiological situation in prison settings has become increasingly severe, being characterized by higher rates of detection of HIV cases and HIV prevalence among inmates. The situation has also been aggravated by high death rates among HIV-infected inmates. Our study found that the high risk of fatal outcomes in HIV-infected inmates was associated with multiple parameters: the male gender, parenteral (injection drug use) HIV transmission, existing comorbidities – viral hepatitis and thoracic diseases.

Keywords: *HIV infection, epidemic process, penitentiary system, inmates, risk factors, fatal outcome*

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Tyumen State Medical University (Protocol No. 88, 23 December, 2019).

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

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

For citation: Kondratova S.E., Marchenko A.N. Analysis of risk factors affecting the HIV epidemic process in the penitentiary system. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):20–27.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-207>

Введение

Пенитенциарная система РФ — уникальная система учреждений и органов, исполняющих уголовные наказания, реализующих меры уголовно-правового характера, административного наказания, профилактического воздействия на правонарушителей¹. Лица, отбывающие наказание в местах лишения свободы (МЛС), — группа с обособленной системой отношений разных свойств и уровней различного качества. Согласно многочисленным источникам и статистическим данным, именно в пенитенциарной системе локализована максимальная эпидемиологическая опасность в части распространения инфекционных болезней [1–4]. Группа заключённых является единственной социальной группой, характеризующейся девиантным поведением со сосредоточением представителей лиц, употребляющих наркотики, работников коммерческого секса и мужчин, имеющих связь с мужчинами [5–9]. В большинстве случаев лица, помещённые под стражу, узнают о своём диагнозе в следственных изоляторах или непосредственно в исправительном учреждении [10–16]. По оценкам экспертов², в уч-

реждениях уголовно-исполнительной системы на постоянной основе локализуется более 23 тыс. лиц, больных активным туберкулёзом³, более 60 тыс. ВИЧ-инфицированных, более 6 тыс. лиц с сочетанной патологией: ВИЧ-инфекция и туберкулёз [17]. Показатель смертности среди заключённых в мире составляет 144 человека на 100 тыс. человек [18–20].

К началу 2019 г. в исправительных учреждениях Тюменской области (ТО) кумулятивно было зарегистрировано 5707 случаев выявления ВИЧ-инфекции, из них в 2018 г. — 248 случаев (14,6% от всех выявленных случаев ВИЧ-инфекции в 2018 г.). Кумулятивная доля лиц, отбывающих срок и имеющих положительный ВИЧ-статус, составила 24,4%.

Цель исследования — выявить и оценить факторы риска, определяющие развитие эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в группе заключённых.

Материалы и методы

Сплошное наблюдательное ретроспективное исследование проводилось с использованием данных статистического наблюдения ГБУЗ ТО «ЦПБС» г. Тюмени, стационарного отделения ФКУЗ «МСЧ № 72» ФСИН России, ГБУЗ ТО «Областная инфекционная клиническая больница» г. Тюмени.

¹ Федеральная служба исполнения наказаний. Краткая характеристика уголовно-исполнительной системы. 2017. Available at: <http://fsin.su/structure/inspector/iao/statistika/Kratkaya%20har-ka%20UIS>

² Федеральная служба исполнения наказаний. Характеристика лиц, содержащихся в исправительных колониях для взрослых; 2019. Available at: <http://fsin.su/structure/inspector/iao/statistika/Xarka%20lic%20sodergahixsya%20v%20IK>

³ Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году». М.; 2017; Федеральная служба исполнения наказаний. Материалы доклада о достигнутых результатах 2016–2017 гг.; 2017. Available at: <http://fsin.su/budget/info.php>

Применены метод анкетирования, статистический, описательно-оценочный, эпидемиологического исследования, логистической регрессии пошагового включения с проведением ROC-анализа (ROC — Receiver operating characteristic). Вычисляли средние величины динамического ряда с определением средней ошибки и непараметрического критерия χ^2 Пирсона [21, 22].

Связь между переменными определяли по коэффициенту линейной корреляции Пирсона (r_{xy}). Силу связи коэффициентов оценивали по шкале тесноты связи Чеддока [23].

Исследование проведено в двух группах, характеристика которых представлена в **табл. 1**.

Результаты

Лидирующее место в социальной структуре ВИЧ-инфицированных на протяжении 20 лет занимает группа заключённых, составляя не менее 24,4% от всех зарегистрированных случаев. Результаты корреляционного анализа показали, что между заболеваемостью ВИЧ-инфекцией населения ТО и заболеваемостью ВИЧ-инфекцией среди заключённых имеется прямая, сильная, высокой тесноты связь ($r_{xy} = 0,87$). Необходимо отметить, что лица, отбывающие наказание, вносят значительный вклад в устойчиво высокий показатель поражённости населения ТО ВИЧ-инфекцией и по настоящее время. В течение последних 10 лет показатель поражённости ВИЧ-инфекцией в МЛС составляет 3113,2 на

100 тыс. заключённых, превысив аналогичный показатель среди населения области (96,5 на 100 тыс. населения) в 32,3 раза. В 2018 г. доля ВИЧ-инфицированных среди заключённых составила 15,4%, в то время как в среднем с 2008 г. — 12,3%. Максимальный показатель поражённости ВИЧ-инфекцией среди заключённых ТО достигнут в 2018 г. — 15447,3 на 100 тыс. заключённых, превысив региональный показатель (1129,5 на 100 тыс. населения) в 13,7 раза.

В 2019–2020 гг. для оценки уровня знаний в части риска заражения ВИЧ в МЛС нами было проведено анонимное анкетирование среди 60 ВИЧ-отрицательных заключённых (мужчин) исправительных учреждений г. Тюмени в возрасте 20–50 лет, в основном со средним специальным образованием (61,7%). С каждым респондентом перед исследованием была проведена беседа об аспектах предстоящего анкетирования. По результатам опроса было установлено следующее:

- информацию о ВИЧ-инфекции заключённые чаще всего получают через СМИ (56,7%), при общении с медицинскими работниками (33,3%), при чтении специальной литературы (18,3%); значительно реже — от друзей и родственников, посредством раздаточного материала по типу листовок, брошюр (11,7% и 8,3% соответственно);
- знания о настоящем уровне поражённости населения ВИЧ в Тюменской области указали 26,7%;

Таблица 1. Группы исследования ВИЧ-инфицированных

Table 1. Study groups of HIV-infected people

Группа исследования Study group	<i>n</i>	Критерии включения Inclusion criteria	Источники данных Data sources	Процент охвата Coverage percentage
Группа 1 (исследуемая) Group 1 (study)	222	1) Лица, отбывающие срок наказания; 2) исследование иммунного блоттинга на ВИЧ (+); 3) госпитализация ВИЧ (+) лиц в стационар в 2008–2018 гг.; 4) наличие заключения о вскрытии бюро СМЭ People serving a prison sentence; 2) immune blot test for HIV (+); 3) hospitalization of HIV (+) individuals in 2008–2018; 4) availability of autopsy reports from the Office of the Chief Medical Examiner	Журналы учета госпитализации больных, журналы регистрации умерших, первичная медицинская документация (ф. 003/у) заключения о вскрытии Hospital admission logbooks, death record logbooks, medical source records (form 003/u), autopsy reports	Группы определены сплошным методом The groups were selected by screening
Группа 2 (контрольная) Group 2 (control)	143	1) Гражданские лица; 2) исследование иммунного блоттинга на ВИЧ (+); 3) госпитализация ВИЧ (+) лиц в стационар в 2011–2018 гг.; 4) наличие заключения о вскрытии бюро СМЭ 1) Civilians; 2) immune blot test for HIV (+); 3) hospitalization of HIV (+) individuals in 2011–2018; 4) availability of autopsy reports from the Office of the Chief Medical Examiner		

- представители МЛС в 58,3% владеют информацией об алгоритме действий в ситуации случайного укола человека иглой, например, на улице, но лишь 50,5% из них указали конкретное место для возможного обследования в экстренной ситуации, а 55% респондентов недостаточно осведомлены о сроках обследования на ВИЧ-инфекцию после предполагаемого заражения;
- 50% опрошенных уверены, что заболевание их не коснется, а 48,3% считают, что для них лично не существует риска заражения ВИЧ;
- 95% не отождествляют свою среду пребывания в качестве рискованной для заражения ВИЧ, при этом 63,3% не отрицают наличие знакомых, потребляющих инъекционные наркотики, и 16,6% употребляли «лёгкие» психоактивные вещества до помещения в МЛС;
- 51,7% указали, что им необходима дополнительная информация о ВИЧ-инфекции.

С учётом полученных данных можно резюмировать, что заключённые не осознают себя частью группы повышенного риска заражения и распространения ВИЧ-инфекции. Более того, 20% заключённых убеждены в существовании вакцины и излечиваемости ВИЧ-инфекции, что может послужить поводом к несоблюдению профилактических мер по заражению и прогрессированию ВИЧ-инфекции.

Показатель смертности является одним из важнейших эпидемиологических критериев успешности реализации государственных программ в части профилактики распространения ВИЧ среди населения. Проведённый нами анализ групп, подлежащих исследованию, показал, что за 2008–2018 гг. в группе умерших ВИЧ-положительных заключённых (УЗ) средняя продолжительность жизни с момента выявления ВИЧ-инфекции составила 6,7 года, в контрольной группе умерших вольных (УВ) — 5 лет. Медиана продолжительности жизни с момента установления положительного иммунного блоттинга до момента смерти среди УЗ и УВ составила 7 лет и 3 года соответственно ($p < 0,001$). Гендерная характеристика исследуемых групп представлена в **табл. 2**.

По путям заражения ВИЧ группы исследования распределились следующим образом:

- наркотический (парентеральный) — УЗ 94,1% и УВ 51,7%;
- половой — УЗ 5,9% и УВ 46,9%;
- вертикальный — УВ 1,7% ($p < 0,001$).

Иные параметры, по которым проводился анализ факторов риска, повышающих вероятность летального исхода в испытуемой и контрольных группах ВИЧ-инфицированных, объединены в **табл. 3**.

На основании заключения протоколов о вскрытии установлено, что в группе УЗ в наибольшей доле случаев ($n = 178$; 80,2%) основным посмертным диагнозом был генерализованный туберкулёз ($\chi^2 = 127,12$; $p < 0,001$), в 61,7% случаев ($n = 137$) это заключение было сделано лишь по результатам вскрытия. Доля выявленных случаев вирусных гепатитов у УЗ составила 72,1% ($n = 160$; $\chi^2 = 34,41$; $p < 0,001$). Заболевания органов грудной клетки (ОГК) (туберкулёз лёгких, в том числе фиброзно-кавернозный; вирусно-бактериальная пневмония) составили 9,0% ($n = 20$; $\chi^2 = 72,78$; $p < 0,001$).

В группе УВ наибольшую долю в качестве основного посмертного диагноза (53 случая; 37,1%) заняли заболевания ОГК ($\chi^2 = 72,78$; $p < 0,001$), что в 4 раза превысило аналогичный показатель в группе УЗ; 59 (41,3%) случаев — вирусный гепатит ($\chi^2 = 34,42$; $p < 0,001$); 29 (20,3%) — генерализованный туберкулёз ($\chi^2 = 127,12$; $p < 0,001$), что в 4 раза ниже аналогичного показателя в группе УЗ; 29 (20,3%) — заболевания ЦНС (менингоэнцефалит, энцефалит смешанной этиологии (токсоплазмоз + цитомегаловирусная инфекция), токсоплазмоз) ($\chi^2 = 42,03$; $p < 0,001$).

При этом последнее прижизненное исследование иммунного статуса у исследуемой и контрольной групп определило уровень CD4-лимфоцитов < 200 кл/мкл у $75,2 \pm 2,9\%$ УЗ и $91,2 \pm 2,4\%$ УВ; $200-350$ кл/мкл у $15,6 \pm 2,5\%$ УЗ и $3,6 \pm 1,6\%$ УВ; более 350 кл/мкл у $9,2 \pm 1,9\%$ УЗ и $5,1 \pm 1,8\%$ УВ. Наиболее статистически значимым являлось различие в группе ВИЧ-инфицированных с уровнем CD4 $200-350$ кл/мкл ($\chi^2 = 10,7$; $p < 0,001$) — среди УЗ в 4,3 раза чаще, чем среди УВ.

Вирусная нагрузка ВИЧ более 100 000 копий/мл, на фоне которой истощение популяции CD4-лимфоцитов происходит интенсивнее, у УЗ

Таблица 2. Распределение ВИЧ-инфицированных по полу
Table 2. Distribution of HIV-infected people by gender

Группа исследования Study group	Мужчины, абс. (%) Men, abs (%)	Женщины, абс. (%) Women, abs (%)	Всего, человек Total, people
УВ Deceased free people	87 (60,8)	56 (39,2)	143
УЗ Deceased incarcerated people	213 (95,9)	9 (4,1)	222

Примечание. $p < 0,001$ по сравнению с умершими вольными.
Note. $p < 0,001$ compared to deceased incarcerated people.

Таблица 3. Параметры, подлежащие исследованию по категориям**Table 3.** Parameters to be investigated by category

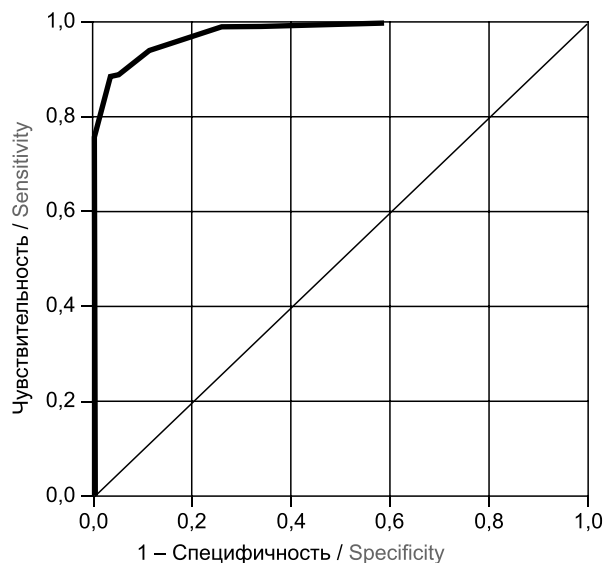
Параметры Parameters		УВ, % Deceased free people, % (n = 143)	УЗ, % Deceased incarcerated people, % (n = 222)	Достоверность различий Significance of differences (p < 0,05)
Стадия ВИЧ-инфекции Stage of HIV infection	3	0,7	3,2	<0,001
	4А	1,4	0,5	
	4Б	–	73,4	
	4В	93,7	23,0	
	5	4,2	–	
ВИЧ-инфекция — основной диагноз HIV infection is the main diagnosis	Нет / No	7,7	1,8	<0,01
	Да / Yes	92,3	98,2	
Сопутствующие состояния / Associated conditions				
ВИЧ-инфекция HIV infection	Нет / No	92,3	98,2	<0,01
	Да / Yes	7,7	1,8	
вирусный гепатит viral hepatitis	Нет / No	58,7	27,9	<0,001
	Да / Yes	41,3	72,1	
генерализованный туберкулёз generalized tuberculosis	Нет / No	79,7	19,8	<0,001
	Да / Yes	20,3	80,2	
заболевание органов ЖКТ gastrointestinal disease	Нет / No	99,3	99,5	0,753
	Да / Yes	0,7	0,5	
заболевание ЦНС central nervous system diseases	Нет / No	79,7	99,1	<0,001
	Да / Yes	20,3	0,9	
онкологическое заболевание cancer	Нет / No	100	95,9	<0,05
	Да / Yes	–	4,1	
заболевание органов грудной клетки thoracic disease	Нет / No	62,9	91,0	<0,001
	Да / Yes	37,1	9,0	
генерализованные бактериальные инфекции generalized bacterial infections	Нет / No	95,1	100	<0,01
	Да / Yes	4,9	–	
заболевание сердечно-сосудистой системы cardiovascular disease	Нет / No	99,3	99,5	0,753
	Да / Yes	0,7	0,5	
генерализованная лимфоаденопатия generalized lymphadenopathy	Нет / No	99,3	97,3	0,254
	Да / Yes	0,7	2,7	
генерализованная цитомегаловирусная инфекция cytomegalovirus generalized infection	Нет / No	97,9	100	0,059
	Да / Yes	2,1	–	
грибковое поражение органов fungal infections	Нет / No	94,4	100	<0,001
	Да / Yes	5,6	–	

определялись в $63,3 \pm 8,80\%$ случаев, у УВ — в $60,0 \pm 5,2\%$.

Для выявления совокупности основных факторов риска, ассоциированных со смертностью ВИЧ-инфицированных граждан в МЛС, в логистическую регрессию (95% ДИ) с помощью отношения шансов включены показатели, статистически значимо различающиеся в группах УЗ и УВ, — пол, возраст выявления заболевания, средняя продолжительность жизни с момента выявления ВИЧ-инфекции, путь передачи ВИЧ, стадии ВИЧ-инфекции,

объединённые в категории: стадии 3, 4А, 4Б; стадии 4В, 5 ($\chi^2 = 195,75; p < 0,001$); сопутствующие заболевания: вирусный гепатит, заболевания ЦНС, генерализованный туберкулёз, заболевания ОГК, уровень CD4-клеток по категориям: менее 200 кл/мкл; 200–350 кл/мкл; более 350 кл/мкл.

По результатам применения метода установлено, что вероятность развития летального исхода у ВИЧ-положительных в группе заключённых ассоциирована с совокупностью следующих параметров: пол мужской (ОШ = 4,68; $p = 0,022$), путь заражения



ROC-кривая оценки логистической регрессионной модели прогноза летального исхода у ВИЧ-инфицированных заключённых (95% ДИ).

The ROC curve of assessment of the logistic regression model for fatal outcome prognosis in HIV-infected inmates (95% CI).

ВИЧ парентеральный (наркотический) (ОШ = 14,64; $p < 0,001$), установленные сопутствующие заболевания — вирусный гепатит (ОШ = 4,75; $p = 0,001$) и заболевание ОГК (ОШ = 20,03; $p < 0,001$).

Обсуждение

Согласно полученным данным, вероятность развития летального исхода у ВИЧ-инфицированных в категории осуждённых в 4,7 раза выше у мужчин, чем у женщин, при этом летальность при заражении ВИЧ наркотическим (парентеральным) путём передачи в 14,6 раза выше. Сопутствующий вирусный гепатит повышает летальность среди ВИЧ-инфицированных заключённых в 4,8 раза, а заболевание ОГК — в 20 раз, чем среди ВИЧ-инфицированных вольных граждан. Оценка качества прогностической значимости модели свидетельствует об отличном качестве прогностической модели (рисунок, табл. 4).

Среди УЗ оказалось 5,4% заключённых, которые соответствовали совокупности всех параме-

Таблица 4. Характеристика прогностической значимости
Table 4. Characteristics of prognostic significance

Площадь под ROC-кривой, $p < 0,001$ Area under the ROC curve, $p < 0.001$	0,977
Чувствительность модели, % Sensitivity of the model, %	93,6
Специфичность модели, % Model specificity, %	89,6
Предсказывающая точность, % Predictive accuracy, %	92,1

тров, значимо связанных с вероятностью развития летального исхода.

Заключение

При сплошном исследовании в группе УЗ за 2008–2018 гг. с выявлением совокупности факторов риска, определяющих наблюдаемый характер эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в МЛС, установлено, что прогрессирование ВИЧ-инфекции и, как следствие, смертность среди заключённых — показатели, которые требуют постоянного внимания всех заинтересованных служб. Полученные результаты анкетирования заключённых свидетельствуют о достаточной самоуверенности этой группы в части отсутствия риска заражения и распространения ВИЧ. При этом особенно важным является повышение доступности информации о профилактике заражения ВИЧ-инфекцией среди заключённых. Оптимизация мер контроля за развитием эпидемического процесса ВИЧ-инфекции среди заключённых в МЛС должна быть одновременной и направленной на профилактику заражения и прогрессирования заболеваний ОГК, сочетающихся с вирусными гепатитами, с акцентом на мужчин с наркотическим путем заражения ВИЧ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Теохаров А.К. Факторы, влияющие на ВИЧ-обстановку в исправительных учреждениях. *Виктимология*. 2018; (1): 76–85.
2. Теохаров А.К., Бойко О.А., Ревагин А.В. Характеристика личности ВИЧ-инфицированного осужденного. *Психопедагогика в правоохранительных органах*. 2018; (3): 103–6. <https://doi.org/10.24411/1999-6241-2018-13019>
3. Михайлова Н.Р., Ермак Т.Н. Вторичные заболевания у больных ВИЧ-инфекцией: особенности эпидемического процесса в пенитенциарных учреждениях. *Инфекционные болезни*. 2013; 11(4): 52–9.
4. Михайлова Ю.В., Нечаева О.Б., Самарина Е.А., Тихонова Ю.В., Шикина И.Б. Инфекционные социально значимые заболевания в местах лишения свободы. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2017; 61(1): 29–35. <https://doi.org/10.18821/0044-197X-2017-61-1-29-35>
5. Буркина Е.С., Шахова Т.С., Михайлова Р.С. Структура летальных исходов и частота встречаемости оппортунистических заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией города Оренбурга. *Вестник совета молодых ученых и специалистов Челябинской области*. 2017; 2(4): 18–20.
6. Рафиев Х.К., Рузиев М.М. ВИЧ-инфекция в пенитенциарных учреждениях Республики Таджикистан. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2011; (1): 15–7. <https://doi.org/10.17816/EID40518>
7. Голиусов А.Т., Волова Л.Ю., Григорьев О.В., Никитина Д.В. Результаты социологических исследований по проблеме ВИЧ/СПИД среди осужденных, отбывающих наказание в Ямало-Ненецком АО. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011; (5): 89–93.
8. Малиновский А.А., Харченко В.И., Бессараб Т.П., Герасимов И.В., Серебряков Е.М., Халилулин Т.Р. Особенности передачи ВИЧ-инфекции: вербально-коммуникативное исследование. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2018; 23(1): 23–9. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-1-23-29>

9. Петросян Т.Р., Шахмарданов М.З. ВИЧ-инфекция и наркотребление. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2018; 23(2): 60–7. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-2-60-67>
 10. Кондратова С.Е., Марченко А.Н. Некоторые эпидемиологические и медико-социальные аспекты ВИЧ-инфекции в группах риска на примере осужденных. *Медицинская наука и образование Урала*. 2019; 20(2): 196–200.
 11. Туленков А.М. *Основные принципы организации медико-санитарного обеспечения лиц, содержащихся в пенитенциарных учреждениях России и за рубежом*. Ижевск; 2014.
 12. Туленков А.М., Дюжева Е.В., Романов К.А. Медико-демографическая ситуация в пенитенциарных учреждениях Приволжского Федерального округа в период формирования уголовно-исполнительной системы. *Казанский медицинский журнал*. 2016; 97(1): 124–30. <https://doi.org/10.17750/KMJ2016-124>
 13. Тиммерзянов М.И. Медико-социальные проблемы здоровья осужденных и оказания медицинской помощи данной категории. *Казанский медицинский журнал*. 2015; 96(6): 1043–9. <https://doi.org/10.17750/KMJ2015-1043>
 14. Радзиховская М.В., Москвичева М.Г., Кафеева Э.И. Нормативно-правовое обеспечение организации медицинской помощи пациентам с ВИЧ-инфекцией на федеральном и региональном уровнях (историческая справка). *Уральский медицинский журнал*. 2018; (4): 119–25. <https://doi.org/10.25694/URMJ.2018.04.052>
 15. Довгополюк Е.С., Левахина Л.И., Тюменцев А.Т., Пасечник О.А., Аксюткина Л.П. Характеристика неблагоприятных исходов ВИЧ-инфекции в Сибирском федеральном округе. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2018; (3): 79–83. <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.79-83>
 16. Шабунова А.А., Калачикова О.Н., Короленко А.В. Обзор мировых и региональных тенденций заболеваемости ВИЧ-инфекцией и обусловленной ей смертности. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2017; (2): 9. <https://doi.org/10.21045/2071-5021-2017-54-2-9>
 17. Павлинский С.Л., Ладная Н.Н., Зайцева Е.Е., Барина Е.Н. Пораженность ВИЧ-инфекцией среди уязвимых групп населения в России – результаты интегрированного биоповеденческого исследования в 2017 г. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2018; (6): 10–8. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-6-10-18>
 18. Нечаева О.Б., Одинцов В.Е. Эпидемическая ситуация по туберкулезу и ВИЧ-инфекции в учреждениях уголовно-исполнительной системы России. *Туберкулез и болезни легких*. 2015; (3): 36–41. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2015-0-3-36-41>
 19. Walmsley R. *World Prison Population List. International Centre for Prison Studies*. London; 2016.
 20. Новгородова А.В. Потерянные годы жизни — индикатор здоровья населения. *Народонаселение*. 2015; (2): 74–86.
 21. Гашев С.Н. *Математические методы в биологии: анализ биологических данных в системе Statistica. Учебное пособие для вузов*. М.: Юрайт; 2018.
 22. Медик В.А. *Математическая статистика в медицине в 2 томах. Том 1: учебное пособие для среднего профессионального образования*. М.: Юрайт; 2020.
 23. Петри А., Сабин К. *Наглядная медицинская статистика: учебное пособие*. Пер. с англ. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
 24. Гладилин А.В. *Эконометрика: учебное пособие*. М.: КноРус; 2014.
- REFERENCES
1. Teokharov A.K. Factors influencing HIV situation in correctional institutions. *Viktimologiya*. 2018; (1): 76–85. (in Russian)
 2. Teokharov A.K., Boyko O.A., Revyagin A.V. Characteristics of an HIV-positive convict. *Psikhopedagogika v pravookhranitel'nykh organakh*. 2018; (3): 103–6. <https://doi.org/10.24411/1999-6241-2018-13019> (in Russian)
 3. Mikhaylova N.R., Ermak T.N. Secondary diseases in HIV-positive patients: specificities of epidemic process in penitentiary institutions. *Infektsionnye bolezni*. 2013; 11(4): 52–9. (in Russian)
 4. Mikhaylova Yu.V., Nechaeva O.B., Samarina E.A., Tikhonova Yu.V., Shikina I.B. The infectious socially significant diseases in places of imprisonment. *Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii*. 2017; 61(1): 29–35. <https://doi.org/10.18821/0044-197X-2017-61-1-29-35> (in Russian)
 5. Burkina E.S., Shakhova T.S., Mikhaylova R.S. The structure of deaths and the incidence of opportunistic diseases in HIV-infected patients in the city of Orenburg. *Vestnik soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoy oblasti*. 2017; 2(4): 18–20. (in Russian)
 6. Rafiev Kh.K., Ruziev M.M. HIV-infection in penitentiary institutions of the Republic of Tajikistan. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2011; (1): 15–7. <https://doi.org/10.17816/EID40518> (in Russian)
 7. Goliusov A.T., Volova L.Yu., Grigor'ev O.V., Nikitina D.V. Results of sociological studies of hiv/aids problem in convicts serving the sentence in Yamalo-Nenets autonomous area. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2011; (5): 89–93. (in Russian)
 8. Malinovskiy A.A., Kharchenko V.I., Bessarab T.P., Gerasimov I.V., Serebryakov E.M., Khalilulin T.R. Features of the mechanisms of transmission of HIV: verbal communication research. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2018; 23(1): 23–9. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-1-23-29> (in Russian)
 9. Petrosyan T.R., Shakhmardanov M.Z. HIV-infection and consumption of psychoactive substances. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2018; 23(2): 60–7. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-2-60-67> (in Russian)
 10. Kondratova S.E., Marchenko A.N. Some epidemiological and medico-social aspects of hiv infection in risk groups on the example of prison inmates. *Meditinskaya nauka i obrazovanie Urala*. 2019; 20(2): 196–200. (in Russian)
 11. Tulenkov A.M. *Basic Principles of the Organization of Medical and Sanitary Provision of Persons Held in Penitentiary Institutions in Russia and Abroad [Osnovnye printsiipy organizatsii mediko-sanitarnogo obespecheniya lits, sodержashchikhsya v penitentsiarnykh uchrezhdeniyakh Rossii i za rubezhom]*. Izhevsk; 2014. (in Russian)
 12. Tulenkov A.M., Dyuzheva E.V., Romanov K.A. Medico-demographic situation in prisons of Volga Federal District in the period of the penal system reforming. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2016; 97(1): 124–30. <https://doi.org/10.17750/KMJ2016-124> (in Russian)
 13. Timmerzyanov M.I. Medical and social health problems of convicted and health care delivery to this category. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2015; 96(6): 1043–9. <https://doi.org/10.17750/KMJ2015-1043> (in Russian)
 14. Radzikhovskaya M.V., Moskvicheva M.G., Kafееva E.I. Regulatory support for the organization of medical care for patients with HIV infection at the federal and regional levels (historical background). *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; (4): 119–25. <https://doi.org/10.25694/URMJ.2018.04.052> (in Russian)
 15. Dovgopoluk E.S., Levakhina L.I., Tyumentsev A.T., Pasechnik O.A., Aksyutina L.P. Characteristics of adverse outcomes of HIV-infection in the Siberian Federal District. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; (3): 79–83. <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.79-83> (in Russian)
 16. Shabunova A.A., Kalachikova O.N., Korolenko A.V. Review of global and regional trends in HIV morbidity and mortality. *So-*

- tsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya*. 2017; (2): 9. <https://doi.org/10.21045/2071-5021-2017-54-2-9>. (in Russian)
17. Pavlinskiy S.L., Ladnaya N.N., Zaytseva E.E., Barinova E.N. HIV prevalence among vulnerable groups in Russia – results of an integrated bio-behavioral survey. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 2018; (6): 10–8. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-6-10-18> (in Russian)
18. Nechaeva O.B., Odintsov V.E. The epidemic situation of tuberculosis and HIV infection in the penitentiary facilities of Russia. *Tuberkulez i bolezni legkikh*. 2015; (3): 36–41. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2015-0-3-36-41> (in Russian)
19. Walmsley R. *World Prison Population List. International Centre for Prison Studies*. London; 2016.
20. Novgorodova A.V. Years of life lost as the indicator of population health. *Narodonaselenie*. 2015; (2): 74–86. (in Russian)
21. Gashev S.N. *Mathematical Methods in Biology: Analysis of Biological Data in Statistica: Textbook for Universities [Matematicheskie metody v biologii: analiz biologicheskikh dannykh v sisteme Statistica. Uchebnoe posobie dlya vuzov]*. Moscow: Yurayt; 2018. (in Russian)
22. Medik V.A. *Mathematical Statistics in Medicine in 2 Vols. Volume 1: Textbook for Secondary Vocational Education [Matematicheskaya statistika v meditsine v 2 tomakh. Tom 1: uchebnoe posobie dlya srednego professional'nogo obrazovaniya]*. Moscow: Yurayt; 2020. (in Russian)
23. Petri A., Sabin C. *Medical Statistics at a Glance*. Chichester, UK: Wiley-Blackwell; 2009. (in Russian)
24. Gladilin A.V. *Econometrics: Textbook [Ekonometrika: uchebnoe posobie]*. Moscow: Knorus; 2014. (in Russian)

Информация об авторах

Кондратова Светлана Евгеньевна[✉] — к.м.н., старший преподаватель каф. гигиены, экологии и эпидемиологии Тюменского государственного медицинского университета, Тюмень, Россия, sardykosvetlana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6385-7624>

Марченко Александр Николаевич — д.м.н., доцент, зав. каф. гигиены, экологии и эпидемиологии Тюменского государственного медицинского университета, Тюмень, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8286-0279>.

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 12.11.2021;
принята к публикации 12.02.2022;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Svetlana E. Kondratova[✉] — Cand. Sci. (Med.), senior lecturer, Department of hygiene, ecology and epidemiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia, sardykosvetlana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6385-7624>

Alexander N. Marchenko — D. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of hygiene, ecology and epidemiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8286-0279>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 12.11.2021;
accepted for publication 12.02.2022;
published 28.02.2022

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-216>

Генетическое разнообразие и мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в Ленинградской области

Щемелев А.Н.^{1✉}, Семенов А.В.², Останкова Ю.В.¹, Зуева Е.Б.¹, Валутите Д.Э.¹, Семенова Д.А.¹, Давыденко В.С.¹, Тотолян А.А.¹

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

²Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Проблема распространения вируса иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) к настоящему времени обрела общемировое значение и фактический статус пандемии. В Санкт-Петербурге — крупном транспортном, туристическом, культурном, промышленном и приграничном центре — наблюдается высокая миграционная активность населения. Это может способствовать заносу и распространению новых генетических вариантов вируса, а также рекомбинационным процессам в вирусной популяции Санкт-Петербурга и Ленинградской области.

Цель — охарактеризовать современный субтипический профиль и мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1 среди пациентов с вирусологической неэффективностью антиретровирусной терапии (АРТ) в Ленинградской области

Материалы и методы. В ходе работы в 2016–2018 гг. был исследован клинический материал от ВИЧ-инфицированных лиц из Ленинградской области с подтвержденной вирусологической неэффективностью АРТ. Для оценки генетического разнообразия и структуры мутаций лекарственной устойчивости полученных изолятов ВИЧ-1 проводили анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *pol* вируса, включающего области, кодирующие протеазу и участок обратной транскриптазы.

Результаты. В обследованной группе ($n = 138$) преобладал характерный для России субсубтип А6 (97,4%), однако в единичных случаях были обнаружены субтип В и рекомбинант, образованный циркулирующей рекомбинантной формой CRF_03AB и субсубтипом А1. По результатам анализа у 95,79% пациентов выявлена хотя бы одна значимая мутация лекарственной устойчивости, чаще всего (73% случаев) вирус был устойчив к 2 классам антиретровирусных препаратов, но иногда (8% случаев) — к 3 классам. Всего были определены 105 различных мутаций фармакорезистентности в 35 позициях генома вируса.

Выводы. Учитывая высокую встречаемость мутаций фармакорезистентности ВИЧ-1 у пациентов с вирусологически неэффективной АРТ, представляется необходимым надзор за лекарственной устойчивостью вируса как у получающих АРТ, так и у АРТ-наивных лиц.

Ключевые слова: ВИЧ-1, лекарственная устойчивость ВИЧ-1, генотипирование ВИЧ-1, антиретровирусная терапия, молекулярная эпидемиология

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (Протоколы № 3 от 07.04.2010 и № 47 от 25.12.2018).

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

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

Для цитирования: Щемелев А.Н., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Зуева Е.Б., Валутите Д.Э., Семенова Д.А., Давыденко В.С., Тотолян А.А. Генетическое разнообразие и мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в Ленинградской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):28–37.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-216>

Genetic diversity and drug resistance mutations of HIV-1 in Leningrad Region

Aleksandr N. Shchemelev^{1✉}, Aleksandr V. Semenov², Yulia V. Ostankova¹, Elena B. Zueva¹, Diana E. Valutite¹, Daria A. Semenova¹, Vladimir S. Davydenko¹, Areg A. Totolian¹

¹St. Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia;

²Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. The spread of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) has become a global concern and has approached the pandemic status. St. Petersburg, a major transportation, tourist, cultural, industrial center, and a border city, is characterized by high migration of the population. The growing number of migrants can contribute to importation and spread of new genetic variants of the virus and trigger recombination processes in the virus population in St. Petersburg and the Leningrad Region.

The **aim** is to characterize the present-day HIV-1 subtype-specific profile and drug-resistance mutations among patients with virological failure on antiretroviral therapy (ART) in the Leningrad Region.

Materials and methods. The study performed in 2016–2018 was based on clinical material from HIV-infected individuals living in the Leningrad Region and having confirmed virological failure on ART. The genetic diversity and distribution of drug-resistance mutations of the HIV-1 isolates were assessed through analysis of nucleotide sequences of the virus *pol* gene fragment that included regions encoding protease and the reverse transcriptase region.

Results. In the group ($n = 138$), most of the patients had sub-subtype A6 (97.4%) common in Russia, though a few patients had subtype B and a recombinant containing circulating recombinant form CRF_03AB and sub-subtype A1. The tests showed that 95.79% of patients had at least one significant drug-resistance mutation; in most cases (73%) the virus was resistant to 2 classes of antiretroviral drugs and in some cases (8%) — to 3 classes. A total of 105 different drug-resistance mutations were found at 35 positions of the virus genome.

Conclusions. The high prevalence of HIV-1 drug-resistance mutations among ART patients with virological failure calls attention to surveillance of drug resistance of the virus both among ART-experienced patients and ART-naïve individuals.

Keywords: HIV-1, HIV-1 drug resistance, HIV-1 genotyping, antiretroviral therapy, molecular epidemiology

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the St. Petersburg Pasteur Institute (Protocols No. 3, April 7, 2010, and No. 47, December 25, 2018).

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

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

For citation: Shchemelev A.N., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Valutite D.E., Semenova D.A., Davydenko V.S., Totolian A.A. Genetic diversity and drug resistance mutations of HIV-1 in Leningrad Region. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2022; 99(1):28–37.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-216>

Введение

На сегодняшний день, согласно данным ЮНЭЙДС¹, в мире зарегистрированы 31,6–44,5 млн человек, живущих с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), при этом число новых инфицированных за 2019 г. составило 1,2–2,2 млн случаев [1].

Одним из отличительных признаков ВИЧ является высокий уровень генетического разнообразия. Существуют два типа ВИЧ, из них наибольшее рас-

пространение получил ВИЧ 1-го типа (ВИЧ-1). Распределение субтипов/субсубтипов ВИЧ в мире неоднородно и варьирует в зависимости от географического региона. Субтип В является основным кладом ВИЧ-1 в Западной и Центральной Европе, однако в России и странах СНГ, в связи с особенностями эпидемического процесса в регионе, субтип В — второй по распространённости вариант ВИЧ, при этом наблюдается доминирование особого субсубтипа А6, также называемого IDU-A (от Injecting Drug Users) или A-FSU (от former Soviet Union countries). Данный субсубтип ранее классифициро-

¹ UNAIDS data 2020. URL: <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2020/unaids-data> (дата обращения: 05.09.2021).

вали как A1, но в связи со значимыми отличиями в строении и распространении от других вариантов ВИЧ-1 субсубтипа A1 его выделили в отдельную сравнительно однородную группу [2, 3].

На территории России представлены также рекомбинантные формы ВИЧ-1, сочетающие в геноме фрагменты, характерные для нескольких различных субтипов. Данные варианты вируса образуются посредством ретровирусной рекомбинации во время обратной транскрипции, когда обратная транскриптаза (ОТ) переключает матрицу между двумя совместно упакованными геномами, генерируя химерную молекулу ДНК [1, 3]. В случаях, если рекомбинантные формы полностью секвенированы и обнаружены у 3 или более эпидемиологически не связанных пациентов, они получают название циркулирующих рекомбинантных форм (*circulating recombinant forms* — CRF). Вирусы, представляющие собой рекомбинанты 4 и более субтипов, называют сложными и обозначают как *срх* [1]. Учитывая динамический характер пандемии ВИЧ-1, число распознаваемых CRF неуклонно растет, и в настоящее время идентифицировано более 100 CRF².

Высокая скорость эволюции вируса, его молекулярно-генетическая изменчивость в результате ошибок при репликации, высоких темпов мутации и рекомбинации фермента ОТ, а также неравномерность скорости фиксации нуклеотидных замен в ходе молекулярной эволюции приводят не только к генерации большого количества субтипов и рекомбинантных форм, но и к накоплению с течением времени мутаций, часть из которых оказывается клинически значимой [4]. Высокоактивная антиретровирусная терапия (АРТ), главной целью которой является подавление репликации вируса, значительно улучшает прогноз для ВИЧ-инфицированных пациентов, снижает смертность и количество осложнений, связанных с ВИЧ-1, увеличивает выживаемость пациентов, однако мутации фармакорезистентности (ФР) вируса остаются серьёзной угрозой устойчивому воздействию антиретровирусных препаратов (АРП) [5]. Особое значение приобретает ФР ВИЧ-1 к препаратам сразу нескольких групп, т.к. это значительно сокращает возможности терапии [6].

ВИЧ-инфекция относится к так называемым социально значимым заболеваниям, опасным для окружающих, а также признана угрозой национальной безопасности³. В первом полугодии 2020 г.

в России было выявлено 38 126 лиц, имеющих антитела к ВИЧ-1, а к концу I полугодия 2020 г. в стране проживало 1 094 050 россиян с лабораторно выявленным диагнозом ВИЧ-инфекции⁴. Также, согласно данным Федерального центра СПИД, лекарственная устойчивость у пациентов, не принимавших АРП, встречается в 5,5% случаев⁵.

Ленинградская область — субъект РФ, расположенный на северо-западе европейской части страны. Региональным центром является город федерального значения — Санкт-Петербург, оказывающий значительное влияние на исследуемый регион.

В Санкт-Петербурге эпидемия ВИЧ-инфекции началась в конце 1980-х гг. и была вялотекущей, т.к. распространялась в основном в группах риска половым путем, группа заболевших была малочисленна, и доминировал субтип В. Затем численность группы риска значительно возросла за счёт проникновения вируса в популяцию потребителей инъекционных наркотиков. С середины 1990-х гг. началось лавинообразное эпидемическое распространение ВИЧ-1 на территории России [7, 8]. В группе потребителей инъекционных наркотиков распространение получил субсубтип А6, и основным путем передачи ВИЧ-1 стал инъекционный [9].

Несмотря на то что заболеваемость в Санкт-Петербурге и Ленинградской области за первое полугодие 2020 г. не превысила среднее значение по стране, данные регионы относятся к самым поражённым ВИЧ-инфекцией. Доминирующим путём передачи вируса в настоящее время являются гетеросексуальные контакты. Согласно данным литературы, для исследуемого региона характерно преобладание ВИЧ-1 субсубтипа А6, однако совместно с ним циркулируют и другие субтипы [10].

Последние данные о распространённости лекарственной устойчивости ВИЧ среди пациентов с вирусологически неэффективной АРТ в Санкт-Петербурге относятся к 2012 г. [9], а информация, отражающая сегодняшнюю ситуацию с вторичной ФР вируса, практически отсутствует. Аналогичные данные о пациентах Ленинградской области в литературе не встречаются.

² HIV Circulating Recombinant Forms (CRFs) // HIV sequence database (2017). URL: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html> (дата обращения: 05.09.2021).

³ Постановление Правительства РФ от 01.12.2004 № 715 «Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих»; Указ Президента РФ от 06.06.2019 г. № 254 «О Стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 года».

⁴ Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Справка. ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2020 г. URL: <http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2021/03/VICH-infektsiya-v-Rossijskoj-Federatsii-na-31.12.2020-.pdf> (дата обращения: 05.09.2021).

⁵ Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Уровень и структура лекарственной устойчивости ВИЧ среди наивных пациентов в Российской Федерации. URL: <http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2020/12/2020-Rossijskaya-baza-dannyh-LU-VICH-naivnyh-patsientov.pdf> (дата обращения: 05.09.2021)

В Санкт-Петербурге — крупном транспортном, туристическом, культурном, промышленном и приграничном центре — наблюдается высокая миграционная активность населения. Это может способствовать заносу и распространению новых генетических вариантов вируса и рекомбинационным процессам в вирусной популяции региона.

Целью настоящей работы являлась характеристика современного субтипического профиля и мутаций ФР ВИЧ-1 среди пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ в Ленинградской области.

Материалы и методы

В ходе работы в 2016–2018 гг. был исследован клинический материал от 138 пациентов из Ленинградской области с подтверждённой вирусологической неэффективностью АРТ, полученный при добровольном информированном согласии пациентов. Плазма крови была направлена в Северо-Западный окружной центр по профилактике и борьбе со СПИД на базе Санкт-Петербургского НИИЭМ им. Пастера на определение ФР ВИЧ.

В полученной плазме крови была выявлена вирусная нагрузка коммерческим набором «АмплиСенс® ВИЧ-Монитор-FRT» (ЦНИИЭ, Россия) с порогом чувствительности 500 копий/мл, и образцы с определяемой вирусной нагрузкой в дальнейшем подвергали ОТ-ПЦР и секвенированию по Сэнгеру. Для обратной транскрипции и амплификации ВИЧ использовали коммерческие наборы «ОТ-ПЦР-комплект-Pro/Rev» и «ПЦР-комплект-Pro/Rev» (ЦНИИЭ, Россия), секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору «АмплиСенс® HIVResist-Seq» (ЦНИИЭ, Россия). Генотипирование ВИЧ-1 осуществляли на основе анализа нуклеотидных последовательностей участка гена *pol* протяжённостью 1302 нт., кодирующего протеазу (PR) и часть ОТ (RT/OT) в области 2253–3554 нт., координаты даны для представленного в международной базе данных GenBank ВИЧ HXB2 (K03455.1). Анализ продуктов секвенирующей реакции проводили с использованием генетического анализатора «ABI Prism 3500» («Applied Biosystems»).

Первичный анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы «NCBI Blast» в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе «MEGA v.7.0», используя алгоритм ClustalW [11]. Для построения филогенетических деревьев и последующего филогенетического анализа применяли алгоритм Neighbor-joining, позволяющий оптимизировать деревья в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции», при оценке достоверности филогенетических связей ис-

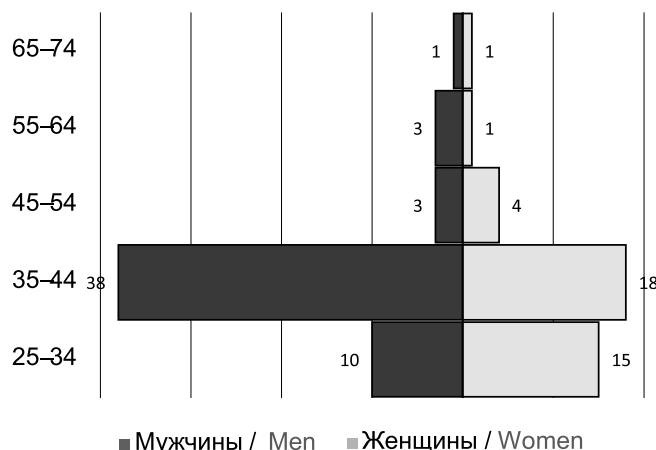


Рис. 1. Соотношение обследованных пациентов по возрасту и полу (в %).

Fig. 1. Age and gender distribution of the examined patients (%).

пользовали многократную генерацию выборок методом Bootstrap для 1000 независимых построений каждого филогенетического дерева.

Генотипирование исследуемых изолятов проводили параллельно в программе «REGA HIV-1 Subtyping Tool v.3.0»⁶ и на основании анализа их филогенетических отношений с референсными последовательностями из международной базы данных GenBank. Для выявления и анализа рекомбинантных форм применяли программу «REGA HIV-1 Subtyping Tool v.3.0», используя параметры, установленные в программе (размер окна — 400; шаг — 20). Анализ генетических последовательностей ВИЧ-1 на наличие мутаций ФР проводили при помощи Стэнфордской базы данных⁷.

Результаты

Из 138 пациентов более половины (59%) принадлежали к мужскому полу. В исследуемой группе преобладала возрастная категория 35–44 года (60%), медианный возраст составил 36 лет (**рис. 1**). У всех пациентов была выявлена вирусная нагрузка ВИЧ-1, превышающая 1000 копий/мл, что позволило получить последовательности генома вируса, кодирующие протеазу и участок ОТ.

На основании двух методов типирования, филогенетического анализа и анализа последовательностей с использованием программы «REGA HIV-1 Subtyping Tool v.3.0», что позволило более точно оценить распределение субтипов ВИЧ-1, показано следующее соотношение субтипов ВИЧ-1: преобладает характерный для России субсубтип А6 (98%), в единичных случаях были встречены субтип В

⁶ REGA HIV-1 Subtyping Tool v.3.0. URL: <http://dbpartners.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool/>

⁷ Stanford HIV DB.

URL: <https://hivdb.stanford.edu/hivdb/by-mutations>

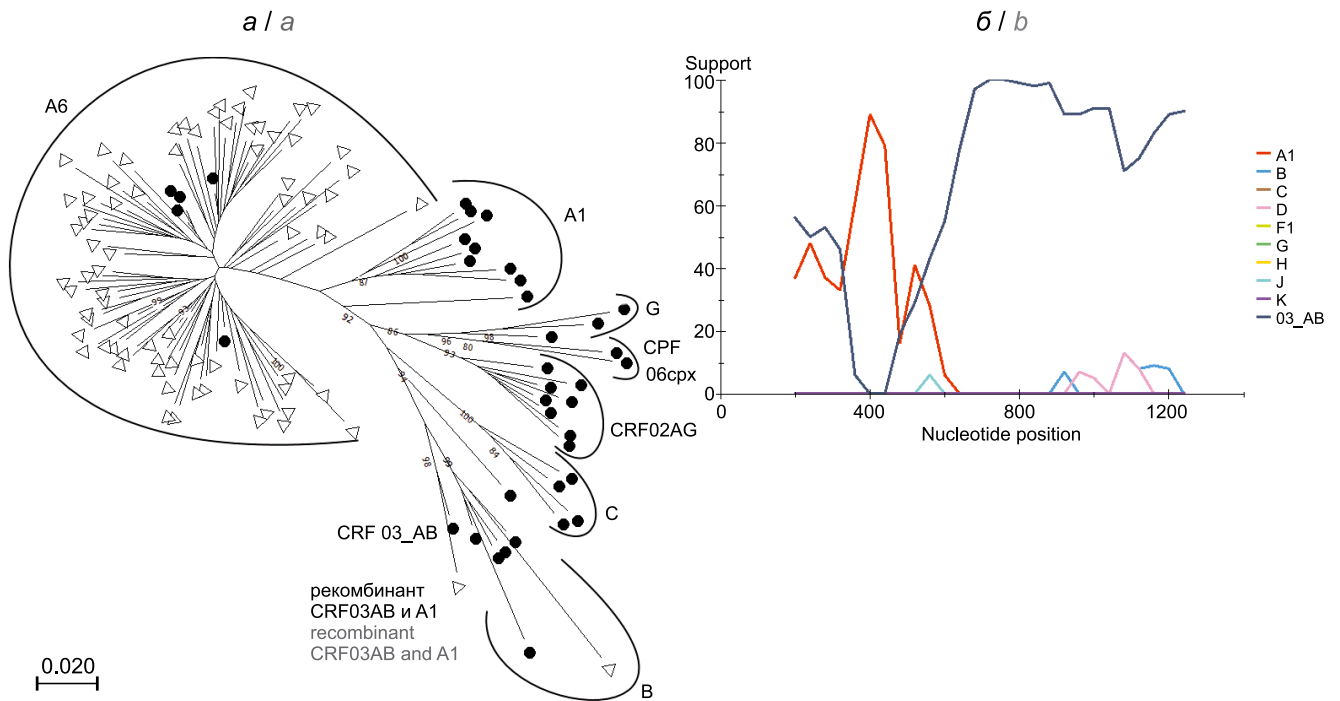


Рис. 2. Филогенетический анализ ВИЧ-1 при помощи алгоритма Neighbor-joining (а) и анализ рекомбинации между субсубтипом A1 и CRF_03AB в «REGA HIV-1 Subtyping Tool v.3.0» (б).

а: • — референсные последовательности (табл. 1); Δ — последовательности изолятов из данного исследования.

Fig. 2. The HIV-1 phylogenetic analysis with the Neighbor-joining algorithm (a) and the analysis of the recombination between sub-subtype A1 and CRF_03AB with the REGA HIV-1 Subtyping Tool v.3.0 program (b).

а: • — reference sequences (Table 1); Δ — sequences of isolates from the study.

(1%) и рекомбинант между циркулирующей рекомбинантной формой CRF_03AB и субсубтипом A1 (1%) (рис. 2, табл. 1).

По результатам анализа у 96% пациентов встречена хотя бы одна значимая мутация, ассоциированная с ФР для соответствующего субсубтипа вируса. Всего нами были встречены 105 различных мутаций ФР в 35 позициях гена *pol* вируса ВИЧ-1 (рис. 3). Встреченные мутации в большинстве (89%) случаев вызывают ФР к нуклеозидным (НИОТ) (43%) и нунуклеозидным (ННИОТ) (47%)

ингибиторам ОТ. Наименьшая доля среди встреченных мутаций (11%) представлена мутациями, ассоциированными с устойчивостью к ингибиторам протеазы (ИП). Наиболее часто встречающиеся у пациентов мутации представлены в табл. 2 и 3.

В подавляющем большинстве выявленных случаев ФР ($n = 130$; 94%) в анализируемых изолятах встречались 2 и более мутации. При этом у таких пациентов вирус чаще всего устойчив к 2 классам АРП ($n = 101$; 73%), но иногда и сразу к 3 классам АРП ($n = 11$; 8%).

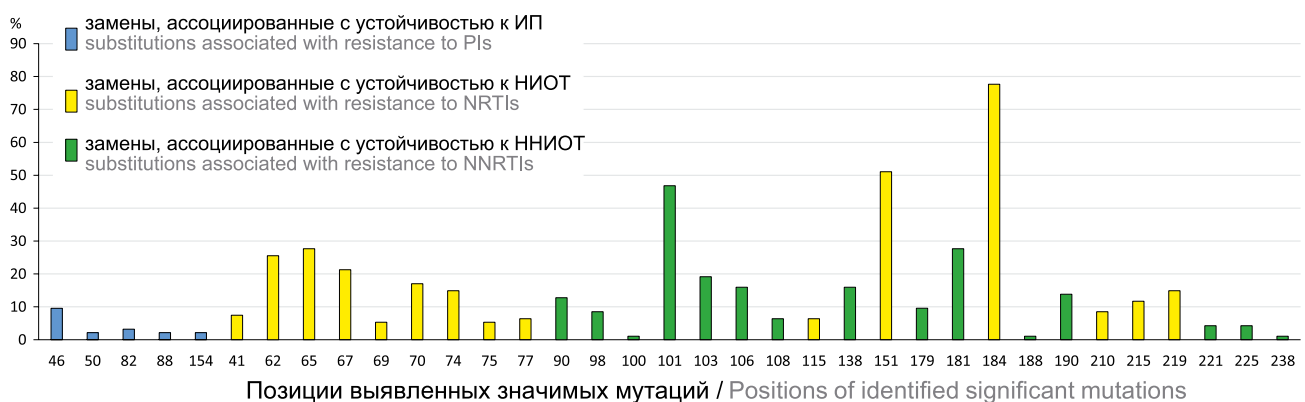


Рис. 3. Встречаемость замен в позициях исследуемого участка гена *pol*.

Fig. 3. Frequency of substitutions at positions of the studied *pol* gene region.

Таблица 1. Наименование референсных последовательностей из GenBank, использованных в филогенетическом анализе

Table 1. GenBank reference sequences used in the phylogenetic analysis

Субсубтип Sub-subtype	Наименование последовательности из GenBank GenBank sequence
A1	AF069670_A1_Somalia
A1	AB287376_A1_Ruanda
A1	U51190_A1_Uganda
A1	EU110087_A1_Kenya
A1	AF484509_A1_Uganda
A1	AF107771_A_Sweden
A2	AF286237_A2_Cyprus
A3	AY521631_A3_Senegal
A3	AY521629_A3_Sweden
A6	HQ449397_A6_Krasnodar
A6	HQ161930_A6_Smolensk
A6	EF589043_A6_Kazakhstan
A6	AY500393_A6_Moscow
A6	AF413987_A6_Kiev
B	M17449_B_USA
B	KJ771697_B_Germany
B	HM586190_B_UK
B	AY713409_B_USA
B	AY173951_B_Thailand
C	AF067155_C_India
C	U52953_C_Brazil
C	U46016_C_Ethiopia
C	AY772699_C_Africa
F1	AF075703_F1_Finland
G	AF061641_G_Finland
G	U88826_G_Nigeria
G	AF084936_G_Congo
CRF_02AG	AF063224_CRF02_AG_Djibouti
CRF_02AG	GU201514_CRF02_AG_Cameroon
CRF_06cpx	HQ529257.1_Ghana_crf_06cpx
CRF02_AG	KT124792_CRF02_AG_Germany
CRF02_AG	AB231898_CRF02_AG_Ghana
CRF02_AG	EU786671_CRF02_AG_Spain
CRF02_AG	AB231896_CRF02_AG_Ghana
CRF02_AG	AY151001_CRF02_AG_Ecuador
CRF02_AG	AF377954_CRF02_AG_Cameroon
CRF03_AB	AF193276_CRF03_AB_Kaliningrad
CRF06_cpx	MH605500.1_Guinea-Bissau_crf_06cpx

Часть полученных и проанализированных нуклеотидных последовательностей участка гена *pol* изолятов ВИЧ-1 депонированы в международную базу данных GeneBank под номерами OL505461–OL505538.

Обсуждение

Генетическое разнообразие ВИЧ-1 в обследованной группе соотносится с характерным для территории России — абсолютное преобладание субсубтипа А6. При этом важно отметить, что при генотипировании инструментами «REGA HIV-1 Subtyping Tool v.3.0» все изоляты были отнесены к субсубтипу А1, однако собственный филогенетический анализ позволяет с полной уверенностью отнести их к субсубтипу А6. Данное несоответствие можно объяснить тем, что в последних версиях используемого программного обеспечения не учитываются данные, подтверждающие необходимость выделения субсубтипа А6 отдельно от субсубтипа А1. Кроме того, в единственном случае был встречен сложный рекомбинант между CRF_03AB и субтипом А1, рекомбинационный анализ которого в рамках данной работы мы проводили в пределах гена *pol*.

Генотипирование крайне важно для последующего исследования образца на наличие устойчивых к АРП вариантов ВИЧ, т.к. генетические варианты вируса могут различаться по биологическим свойствам, скорости эволюции вируса и прогрессирования заболевания, а также вкладу различных мутаций в формирование ФР к АРТ. В связи с этим необходимы дополнительные исследования для оценки участия рекомбинантных форм в генетическом разнообразии вируса в регионе. Недостаточное внимание к высокому разнообразию рекомбинантов ВИЧ и отсутствие полных данных о распространённых точках рекомбинации могут привести к ошибочному определению наличия или отсутствия ФР у вируса [21].

Нельзя не отметить различие в генетическом разнообразии субтипических профилей, полученных в данной работе и в исследовании 2012 г. [9]. Ленинградская область показывает меньшее количество встречающихся субтипов по сравнению с Санкт-Петербургом, что может говорить о значительной изолированности популяций ВИЧ-инфицированных пациентов области и города, несмотря на их географическую близость.

Крайне высокой оказалась встречаемость мутаций ФР у пациентов с вирусологической неэффективностью АРТ. При этом чаще всего можно было встретить мутации к ингибиторам ОТ, а мутации, ассоциированные с устойчивостью к ИП, встречены лишь в 8 (6%) случаях, что может быть связано с более высоким генетическим барьером к ФР у ИП, а также менее частым их использованием в схемах лечения у обследованных пациентов [22, 23].

Таблица 2. Наиболее часто встречающиеся мутации ФР ВИЧ у обследованных пациентов**Table 2.** Most frequent HIV DR mutations in the examined patients

Мутация Mutation	Встречаемость Frequency	Описание Description
<i>M184V</i>	106 (77%)	Вызывает высокую устойчивость <i>in vitro</i> к ЗТС и FTC и низкую устойчивость к ddI и ABC [12] Causes high-level resistance <i>in vitro</i> to 3TC and FTC and low-level resistance to ddI and ABC [12]
<i>Q151M</i>	70 (51%)	Вызывает устойчивость среднего/высокого уровня к AZT, ddI, d4T и ABC и устойчивость низкого уровня к TDF, ЗТС и FTC [13] Causes intermediate/high-level resistance to AZT, ddI, d4T, and ABC and low-level resistance to TDF, 3TC, and FTC [13]
<i>K101E</i>	65 (47%)	Вызывает промежуточную устойчивость к NVP и RPV, низкий уровень устойчивости к EFV и потенциально низкий уровень устойчивости к ETR [14] Causes intermediate-level resistance to NVP and RPV, low-level resistance to EFV and potentially low-level resistance to ETR [14]
<i>Y181C</i>	37 (27%)	Снижает восприимчивость к NVP, ETR, RPV и EFV более чем в 50, 5, 3 и 2 раза соответственно [15] Reduces susceptibility to NVP, ETR, RPV, and EFV more than by 50-fold, 5-fold, 3-fold, and 2-fold, respectively [15]
<i>K65R</i>	37 (27%)	Вызывает среднюю/высокую устойчивость к TDF, ddI, ABC и d4T и низкую/среднюю устойчивость к ЗТС и FTC. Увеличивает восприимчивость к AZT [16] Causes intermediate/high-level resistance to TDF, ddI, ABC, and d4T, and low/intermediate-level resistance to 3TC and FTC. Increases susceptibility to AZT [16]
<i>D67N</i>	28 (20%)	Ассоциирована с низким уровнем устойчивости к AZT и d4T, а также способствует снижению восприимчивости к ABC, ddI и TDF [17] Associated with low-level resistance to AZT and d4T, and contributes to reduced susceptibility to ABC, ddI, and TDF [17]
<i>K103N</i>	26 (19%)	Вызывает значительное снижение чувствительности к NVP и EFV [17] Causes a significant decrease in susceptibility to NVP and EFV [17]
<i>E138A</i>	22 (16%)	Снижает восприимчивость к ETR и RPV приблизительно в 2 раза [18] Reduces susceptibility to ETR and RPV approximately by 2-fold [18]
<i>G190S</i>	19 (14%)	Вызывает высокий уровень устойчивости к NVP и EFV [19] Causes high-level resistance to NVP and EFV [19]
<i>V90I</i>	18 (13%)	Связана с минимальным снижением чувствительности к ННИОТ [20] Associated with a minimum decrease in susceptibility to NNRTIs [20]

В сравнении с данными 2012 г., относящимися к Санкт-Петербургу, частота встречаемости мутаций ФР ВИЧ-1 увеличилась более чем в 3 раза: с 30% до 95% [9]. Такой рост количества устойчивых вариантов вируса можно объяснить изменением популяции ВИЧ-инфицированных в России: за этот период эпидемия вышла из уязвимых групп населения, в связи с чем повысился социальный статус людей, живущих с ВИЧ. Среди пациентов, принимающих АРП, повысилась приверженность, и вместе с тем увеличилось количество пациентов с субоптимальной приверженностью к лечению, которая является наиболее опасной для формирования ФР [24]. Одновременно с этим в регионе растёт встречаемость передающейся первичной устойчивости, которая, несомненно, вносит вклад в распространённость ФР среди лиц, принимающих АРП, т.к. на данный момент не проводится тестирование пациентов перед началом терапии на наличие мутаций ФР [10].

Кроме встречаемости мутаций, изменилась и их структура (рис. 3). На 1-м месте по встречаемости по-прежнему находится *M184V* ($n = 106$; 77%). На 2-м месте — мутация *Q151M* ($n = 70$;

Таблица 3. Встречаемость наиболее распространённых сочетаний мутаций ФР ВИЧ у обследованных пациентов
Table 3. Frequency of the most common combinations of HIV DR mutations in the examined patients

Мутации Mutations	Встречаемость Frequency
<i>M184V + K101E</i>	29 (21%)
<i>M184V + K103N</i>	19 (14%)
<i>M184V + K101E + G190S</i>	17 (12%)
<i>M184V + Q151M + K103N</i>	16 (11%)
<i>M184V + G190S</i>	7 (5%)

51%), ассоциированная с ФР сразу к нескольким НИОТ, при этом она не отмечалась в 2012 г. [9]. В 2012 г. на 3-м месте по частоте встречаемости были представлены мутации *G190S* (47%) и *K103N* (13%), связанные с ФР вируса к ННИОТ, в данном исследовании 3-е место занимают мутации в 101-й позиции ($n = 65$; 47%), также ассоциированные с ФР к ННИОТ. Мутации ФР к НИОТ и ННИОТ встречались одинаково часто, во многих случаях совместно, вызывая устойчивость к большинству ингибиторов ОТ.

Среди мутаций ФР к ИП во всех случаях встречалась главная мутация *M46I/L* и в 3 случаях — минорная мутация *L89T*.

Кроме того, выявлены 2 мутации в 10-й позиции области протеазы, одна из которых — *L10LF* — является минорной мутацией устойчивости к ИП, а другая, встреченная в 40 (29%) случаях, — *L10I* — увеличивает репликацию вирусов с другими мутациями устойчивости к ИП [25].

Интересно отметить, что полученные результаты незначительно отличались от результатов анализа субтипического и мутационного профилей ВИЧ-1 у пациентов с вирусологически неэффективной АРТ из других регионов Северо-Западного федерального округа РФ. Так, в Архангельске преобладал субсубтип А6 (90%) по сравнению с субтипом В (9%), в 1 (1%) случае был выявлен вариант *CRF03_AB*. Мутации ФР в группе из Архангельска были выявлены у меньшего количества пациентов (86,7%), как и множественные (2 и более) мутации показаны у меньшего количества больных (81,9%), однако достоверных отличий нет. Мутации к ингибиторам ОТ встречались чаще (84%), чем мутации к ИП (16%), изоляты с ФР только к НИОТ составили 17%, только к ННИОТ — 2%, только к ИП — 11%, одновременно к ИП и НИОТ — 12%, к НИОТ и ННИОТ — 47%, ко всем 3 группам препаратов одновременно — 12% [26]. Несмотря на столь высокое сходство распространённости мутаций в целом, наблюдается отличие в структуре мутаций. Так, среди пациентов из Архангельска преобладала мутация *M184V* — 72% (67% от всех мутаций), как и в данном исследовании. В то же время встречаемость мутаций *K103N* (33%) и *G190S* (немногим менее 25%) более сходна с исследованием в Санкт-Петербурге в 2012 г. Сходная распространённость указанных мутаций была выявлена у ВИЧ-инфицированных лиц с неэффективной АРТ в Новгороде [27].

Выводы

Преобладающим геновариантом ВИЧ-1 в Ленинградской области среди пациентов с вирусологически неэффективной АРТ остается ВИЧ-1 А6 (IDUA). Показано значительное увеличение частоты встречаемости мутаций ФР ВИЧ-1 в регионе по сравнению с 2012 г. Среди образцов с мутациями ФР во всех случаях обнаружены мутации к 2 или 3 группам препаратов. Учитывая высокую встречаемость мутаций ФР у пациентов с вирусологически неэффективной АРТ, представляется необходимым надзор за ФР ВИЧ-1 как у получающих АРТ, так и у АРТ-наивных лиц. Отсутствие контроля может привести к распространению первично резистентных к АРТ ВИЧ-пациентов.

Изучение молекулярно-эпидемического разнообразия ВИЧ-1 позволит отслеживать распространение и рост эпидемии ВИЧ с течением времени.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sharp P.M., Hahn B.H. Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2011; 1(1): a006841. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006841>
2. Bobkov A.F., Kazennova E.V., Selimova L.M., Khanina T.A., Ryabov G.S., Bobkova M.R., et al. Temporal trends in the HIV-1 epidemic in Russia: predominance of subtype A. *J. Med. Virol.* 2004; 74(2): 191–6. <https://doi.org/10.1002/jmv.20177>
3. Schlösser M., Kartashev V.V., Mikkola V.H., Shemshura A., Saukhat S., Kolpakov D., et al. HIV-1 sub-subtype A6: settings for normalised identification and molecular epidemiology in the Southern Federal District, Russia. *Viruses.* 2020; 12(4): 475. <https://doi.org/10.3390/v12040475>
4. Gupta R.K., Jordan M.R., Sultan B.J., Hill A., Davis D.H., Gregson J., et al. Global trends in antiretroviral resistance in treatment-naïve individuals with HIV after rollout of antiretroviral treatment in resource-limited settings: a global collaborative study and meta-regression analysis. *Lancet.* 2012; 380(9849): 1250–8. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(12\)61038-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(12)61038-1)
5. Scherrer A., von Wyl V., Yan W., Kouyos R.D., Böni J., Yerly S., et al. Emergence of acquired HIV-1 drug resistance almost stopped in Switzerland: A 15-year prospective cohort analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 62(10): 1310–7. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw128>
6. Shafer R.W., Rhee S.Y., Bennett D.E. Consensus resistance mutations for epidemiological surveillance: basic principles and potential controversies. *Antivir. Ther.* 2008; 13 Suppl. 2(02): 59–68.
7. Онищенко Г.Г. ВИЧ-инфекция — проблема человечества. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2009; 1(1): 5–9.
8. Беляков Н.А. *Головной мозг как мишень для ВИЧ: актовая речь.* СПб.; 2011.
9. Дементьева Н.Е., Сизова Н.В., Лисицина З.Н., Беляков Н.А. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции в Санкт-Петербурге. *Медицинский академический журнал.* 2012; 12(2): 97–104.
10. Ингабире Т., Семенов А.В., Есауленко Е.В., Зуева Е.В., Щемелев А.Н., Бушманова А.Д. Первичная лекарственная устойчивость среди впервые выявленных пациентов с ВИЧ-1 в Санкт-Петербурге. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2021; 13(1): 70–9. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-1-70-79>
11. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7): 1870–4. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
12. Hung M., Tokarsky E.J., Lagpacan L., Zhang L., Suo Z., Lansdon E.B. Elucidating molecular interactions of L-nucleotides with HIV-1 reverse transcriptase and mechanism of M184V-caused drug resistance. *Commun. Biol.* 2019; 2: 469. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0706-x>
13. Das K., Martinez S.E., Arnold E. Structural insights into HIV reverse transcriptase mutations Q151M and Q151M complex that confer multinucleoside drug resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61(6): e00224-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.00224-17>
14. Xu H.T., Colby-Germinario S.P., Huang W., Oliveira M., Han Y., Quan Y., et al. Role of the K101E substitution in HIV-1 reverse transcriptase in resistance to rilpivirine and other nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(11): 5649–57. <https://doi.org/10.1128/AAC.01536-13>
15. Archer R.H., Wisniewski M., Bambara R.A., Demeter L.M. The Y181C mutant of HIV-1 reverse transcriptase resistant to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors alters the size distribution of RNase H cleavages. *Biochemistry.* 2001; 40(13): 4087–95. <https://doi.org/10.1021/bi002328a>
16. Gu Z., Fletcher R.S., Arts E.J., Wainberg M.A., Parniak M.A. The K65R mutant reverse transcriptase of HIV-1 cross-resistant

- to 2', 3'-dideoxycytidine, 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine, and 2',3'-dideoxyinosine shows reduced sensitivity to specific dideoxynucleoside triphosphate inhibitors in vitro. *J. Biol. Chem.* 1994; 269(45): 28118–22.
17. Ibe S., Sugiura W. Clinical significance of HIV reverse-transcriptase inhibitor-resistance mutations. *Future Microbiol.* 2011; 6(3): 295–315. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.7>
 18. Calvez V., Marcelin A.G., Vingerhoets J., Hill A., Hadacek B., Moecklinghoff C. Systematic review to determine the prevalence of transmitted drug resistance mutations to rilpivirine in HIV-infected treatment-naive persons. *Antivir. Ther.* 2016; 21(5): 405–12. <https://doi.org/10.3851/IMP3024>
 19. Brenner B.G. Selective acquisition of G190S in HIV-1 subtype A from Russia leading to efavirenz and nevirapine treatment failure. *AIDS.* 2014; 28(17): 2619–21. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000404>
 20. Libre J.M., Santos J.R., Clot E. Etravirine: genetic barrier and resistance development. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2009; 27 Suppl. 2: 32–9. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(09\)73217-3](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(09)73217-3) (in Spanish)
 21. Казеннова Е.В., Лаповок А.В., Васильев А.В., Лага В.Ю., Грезина Л.А., Волова Л.Ю. и соавт. Проблемы субтипирования ВИЧ-1 на основе анализа гена *pol* и способы их разрешения. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2010; 2(3): 42–8.
 22. Бобкова М.Р. *Лекарственная устойчивость ВИЧ.* М.: Человек; 2014.
 23. Котова В.О., Троценко О.Е., Балахонцева Л.А., Базыкина Е.А. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, выделенных в субъектах Дальневосточного федерального округа. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2019; 64(2): 79–89. <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2019-64-2-79-89>
 24. Лебедева Н.Н., Зверев С.Я., Кулагин В.В., Курина Н.В., Пронин А.Ю., Микова О.Е. и соавт. Индикаторы раннего предупреждения лекарственной устойчивости ВИЧ и их оценка в некоторых регионах России. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2018; 10(4): 67–75. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2018-10-4-67-75>
 25. Flor-Parra F., Pérez-Pulido A.J., Pachón J., Pérez-Romero P. The HIV type 1 protease L10I minor mutation decreases replication capacity and confers resistance to protease inhibitors. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2011; 27(1): 65–70. <https://doi.org/10.1089/aid.2010.0072>
 26. Останкова Ю.В., Щемелев А.Н., Зуева Е.Б., Чурина М.А., Валутите Д.Э., Семенов А.В. Молекулярная эпидемиология и фармакорезистентность ВИЧ у пациентов с вирусологической неэффективностью антиретровирусной терапии в Архангельской области. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2019; 11(4): 79–90. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2019-11-4-79-9>
 27. Чурина М.А., Останкова Ю.В., Семенов А.В., Никитина Н.А., Росоловский А.П., Гребенкина Е.В. и соавт. Молекулярная эпидемиология и фармакорезистентность ВИЧ-1 у пациентов с неэффективностью АРВТ в Великом Новгороде. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2017; 9(1): 82–92. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2017-9-1-82-92>
- for normalised identification and molecular epidemiology in the Southern Federal District, Russia. *Viruses.* 2020; 12(4): 475. <https://doi.org/10.3390/v12040475>
4. Gupta R.K., Jordan M.R., Sultan B.J., Hill A., Davis D.H., Gregson J., et al. Global trends in antiretroviral resistance in treatment-naive individuals with HIV after rollout of antiretroviral treatment in resource-limited settings: a global collaborative study and meta-regression analysis. *Lancet.* 2012; 380(9849): 1250–8. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(12\)61038-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(12)61038-1)
 5. Scherrer A., von Wyl V., Yan W., Kouyos R.D., Böni J., Yerly S., et al. Emergence of acquired HIV-1 drug resistance almost stopped in Switzerland: A 15-year prospective cohort analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 62(10): 1310–7. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw128>
 6. Shafer R.W., Rhee S.Y., Bennett D.E. Consensus resistance mutations for epidemiological surveillance: basic principles and potential controversies. *Antivir. Ther.* 2008; 13 Suppl. 2(02): 59–68.
 7. Onishchenko G.G. HIV infection is a problem of humanity. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2009; 1(1): 5–9. (in Russian)
 8. Belyakov N.A. *The Brain as a Target for HIV: Act Speech [Golovnoy mozg kak mishen' dlya VICH: aktovaya rech'].* St. Petersburg; 2011. (in Russian)
 9. Dement'eva N.E., Sizova N.V., Lisitsina Z.N., Belyakov N.A. Molecular and epidemiologic characteristic of HIV infection in Saint-Petersburg. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal.* 2012; 12(2): 97–104. (in Russian)
 10. Ingabire T., Semenov A.V., Esaulenko E.V., Zueva E.V., Shchemelev A.N., Bushmanova A.D. Primary HIV drug resistance among newly HIV type-1 diagnosed patients in St. Petersburg. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2021; 13(1): 70–9. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-1-70-79> (in Russian)
 11. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7): 1870–4. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
 12. Hung M., Tokarsky E.J., Lagpacan L., Zhang L., Suo Z., Lansdon E.B. Elucidating molecular interactions of L-nucleotides with HIV-1 reverse transcriptase and mechanism of M184V-caused drug resistance. *Commun. Biol.* 2019; 2: 469. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0706-x>
 13. Das K., Martinez S.E., Arnold E. Structural insights into HIV reverse transcriptase mutations Q151M and Q151M complex that confer multinucleoside drug resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61(6): e00224-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.00224-17>
 14. Xu H.T., Colby-Germinario S.P., Huang W., Oliveira M., Han Y., Quan Y., et al. Role of the K101E substitution in HIV-1 reverse transcriptase in resistance to rilpivirine and other non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(11): 5649–57. <https://doi.org/10.1128/AAC.01536-13>
 15. Archer R.H., Wisniewski M., Bambara R.A., Demeter L.M. The Y181C mutant of HIV-1 reverse transcriptase resistant to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors alters the size distribution of RNase H cleavages. *Biochemistry.* 2001; 40(13): 4087–95. <https://doi.org/10.1021/bi002328a>
 16. Gu Z., Fletcher R.S., Arts E.J., Wainberg M.A., Parniak M.A. The K65R mutant reverse transcriptase of HIV-1 cross-resistant to 2', 3'-dideoxycytidine, 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine, and 2',3'-dideoxyinosine shows reduced sensitivity to specific dideoxynucleoside triphosphate inhibitors in vitro. *J. Biol. Chem.* 1994; 269(45): 28118–22.
 17. Ibe S., Sugiura W. Clinical significance of HIV reverse-transcriptase inhibitor-resistance mutations. *Future Microbiol.* 2011; 6(3): 295–315. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.7>
 18. Calvez V., Marcelin A.G., Vingerhoets J., Hill A., Hadacek B., Moecklinghoff C. Systematic review to determine the pre-

REFERENCES

1. Sharp P.M., Hahn B.H. Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2011; 1(1): a006841. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006841>
2. Bobkov A.F., Kazennova E.V., Selimova L.M., Khanina T.A., Ryabov G.S., Bobkova M.R., et al. Temporal trends in the HIV-1 epidemic in Russia: predominance of subtype A. *J. Med. Virol.* 2004; 74(2): 191–6. <https://doi.org/10.1002/jmv.20177>
3. Schlösser M., Kartashev V.V., Mikkola V.H., Shemshura A., Saukhat S., Kolpakov D., et al. HIV-1 sub-subtype A6: settings

- valence of transmitted drug resistance mutations to rilpivirine in HIV-infected treatment-naive persons. *Antivir. Ther.* 2016; 21(5): 405–12.
<https://doi.org/10.3851/IMP3024>
19. Brenner B.G. Selective acquisition of G190S in HIV-1 subtype A from Russia leading to efavirenz and nevirapine treatment failure. *AIDS.* 2014; 28(17): 2619–21.
<https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000404>
20. Llibre J.M., Santos J.R., Clotet B. Etravirine: genetic barrier and resistance development. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2009; 27 Suppl. 2: 32–9.
[https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(09\)73217-3](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(09)73217-3) (in Spanish)
21. Kazennova E.V., Lapovok A.V., Vasil'ev A.V., Laga V.Yu., Grezina L.A., Volova L.Yu., et al. Problems of subtyping of HIV-1 on the base of Pol gene and ways of their permission. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2010; 2(3): 42–8. (in Russian)
22. Bobkova M.R. *Drug Resistance of HIV [Lekarstvennaya ustoychivost' VICH]*. Moscow: Chelovek; 2014. (in Russian)
23. Kotova V.O., Trotsenko O.E., Balakhontseva L.A., Bazykina E.A. Molecular genetic characteristics of HIV-1 variants isolated in the subjects of the Russian Far East. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2019; 64(2): 79–89.
<https://doi.org/10.18821/0507-4088-2019-64-2-79-89> (in Russian)
24. Lebedeva N.N., Zverev S.Ya., Kulagin V.V., Kurina N.V., Proinin A.Yu., Mikova O.E., et al. HIV drug resistance early warning indicators and their assessment in some regions of Russia. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2018; 10(4): 67–75.
<https://doi.org/10.22328/2077-9828-2018-10-4-67-75> (in Russian)
25. Flor-Parra F., Pérez-Pulido A.J., Pachón J., Pérez-Romero P. The HIV type 1 protease L10I minor mutation decreases replication capacity and confers resistance to protease inhibitors. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2011; 27(1): 65–70.
<https://doi.org/10.1089/aid.2010.0072>
26. Ostankova Yu.V., Shchemelev A.N., Zueva E.B., Churina M.A., Valutite D.E., Semenov A.V. HIV molecular epidemiology and pharmaco-resistance in patients with antiretroviral therapy failure in Arkhangelsk district. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2019; 11(4): 79–90.
<https://doi.org/10.22328/2077-9828-2019-11-4-79-90> (in Russian)
27. Churina M.A., Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Nikitina N.A., Rosolovskiy A.P., Grebenkina E.V., et al. HIV-1 drug-resistance and molecular epidemiology in patients with art failure in Veliky Novgorod. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2017; 9(1): 82–92. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2017-9-1-82-92> (in Russian)

Информация об авторах

Щемелев Александр Николаевич[✉] — м.н.с. лаб. вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции, аспирант НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, tvildorm@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3139-3674>

Семенов Александр Владимирович — д.б.н., руководитель ЕНИИВИ ГНЦ ВБ «Вектор», Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Останкова Юлия Владимировна — к.б.н., зав. лаб. вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2270-8897>

Зуева Елена Борисовна — к.б.н., с.н.с. лаб. экспериментальной вирусологии НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0579-110X>

Валутите Диана Эдуардовна — врач клинической лабораторной диагностики отделения ВИЧ-инфекции и СПИД-ассоциированных заболеваний НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0931-102X>

Семенова Дарья Андреевна — сотрудник лаб. вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2599-5142>

Давыденко Владимир Сергеевич — лаборант-исследователь лаб. вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции, аспирант НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0078-9681>

Тотolian Арег Артемович — д.м.н., профессор, академик РАН, зав. лаб. молекулярной иммунологии, директор НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 13.12.2021;
принята к публикации 12.02.2022;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Aleksandr N. Shchemelev[✉] — junior researcher, Laboratory of virology and immunology of HIV infection, postgraduate student, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, tvildorm@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3139-3674>

Aleksandr V. Semenov — D. Sci. (Biol.), Head, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Yekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Yulia V. Ostankova — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of virology and immunology of HIV infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2270-8897>

Elena B. Zueva — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of experimental virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0579-110X>

Diana E. Valutite — doctor of clinical laboratory diagnostics, Department for diagnosing HIV infection and AIDS-related diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0931-102X>

Daria A. Semenova — employee, Laboratory of virology and immunology of HIV infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2599-5142>

Vladimir S. Davydenko — research laboratory assistant, Laboratory of virology and immunology of HIV infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0078-9681>

Areg A. Totolian — D. Sci. (Med.), Professor, Full Member of RAS, Head, Laboratory of molecular immunology, Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 13.12.2021;
accepted for publication 12.02.2022;
published 28.02.2022



Разнообразии субтипов, филогенетический анализ и изучение лекарственной устойчивости штаммов ВИЧ-1, циркулирующих в Уральском федеральном округе

Питерский М.В.[✉], Гусев А.Г., Ходаков О.А., Захарова Ю.А., Семенов А.В.

Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Уральский федеральный округ (УФО) является одной из наиболее эпидемически неблагополучных территорий в Российской Федерации по ВИЧ-инфекции на протяжении последних 20 лет. Общее число лиц, живущих с ВИЧ/СПИД (ЛЖВС), получающих антиретровирусную терапию (АРТ), превышает 100 тыс. человек (61,7% от всех ЛЖВС в УФО), что создаёт предпосылки для широкого распространения резистентных штаммов.

Целью исследования явились определение субтиповой структуры ВИЧ, оценка генетической гетерогенности выделенных штаммов ВИЧ, анализ распространённости мутаций лекарственной устойчивости (МЛУ) ВИЧ к антиретровирусным препаратам (АРВП) и частоты выявления резистентности к АРВП у лиц, получающих АРТ в УФО.

Материалы и методы. Обследованы 223 пациента на 3–4-й стадии ВИЧ-инфекции, проживающие на территории УФО. Для определения субтипов и МЛУ в гене *pol* ВИЧ-1 проведены молекулярно-генетические исследования с применением тест-системы «АмплиСенс® HIV-Resist-Seq» методом секвенирования по Сэнгеру на анализаторе «Applied Biosystems 3500». Генетическую гетерогенность оценивали с помощью расчёта идентичности участка генома выделенных штаммов в сравнении с геномами зарубежных штаммов ВИЧ, а также с использованием филогенетического анализа.

Результаты. В изучаемой группе пациентов идентифицированы 5 субтипов ВИЧ-1: субтип А6 встречался в 91,03% случаев, субтип В — в 2,69%, на 3 рекомбинантных субтипа (CRF03_A6B, CRF02_AG, CRF63_02A6) пришлось 6,28%. Среди выделенных штаммов ВИЧ 43,9% имеют большое генетическое сходство (идентичность не менее 97%) со штаммами, выделенными от пациентов из стран ближнего зарубежья (Беларусь, Казахстан, Кыргызстан, Узбекистан, Литва); 35,9% сходны со штаммами, выделенными от пациентов из стран дальнего зарубежья (США, Китай, Южная Корея, Австралия, Швеция, Германия). Установлена высокая гетерогенность генетических вариантов штаммов ВИЧ, циркулирующих на территории УФО, что является неблагоприятным фактором для диагностики резистентности и лечения ВИЧ. Наиболее распространены МЛУ одновременно к нуклеозидным и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы, выявленные в 81 (36,3%) образце. МЛУ M184V, формирующая резистентность к НИОТ, встречалась чаще других ($p = 0,0008$) и была выявлена в 88 (39,5%) образцах.

Заключение. В субтиповой структуре ВИЧ доминирующим субтипом являлся субтип А6, наиболее распространённый в странах, ранее входивших в состав СССР. Генетическая гетерогенность штаммов ВИЧ, циркулирующих в УФО, позволяет предполагать продолжающиеся заносы ВИЧ-инфекции в УФО из популяций, находящихся за пределами России. Полученные результаты подтверждают высокую распространённость МЛУ (62,8%) и лекарственной устойчивости ВИЧ-1 (60,1%) среди лиц с ВИЧ/СПИД, проживающих на территории УФО. При этом резистентность высокого уровня выявлена у 56,5% пациентов, что требует увеличения охвата лиц, живущих с ВИЧ, обследованием на резистентность ВИЧ, в том числе внедрения мониторинга за первичной резистентностью, в целях оптимизации схем АРТ первой линии.

Ключевые слова: ВИЧ, субтип, генотип, резистентность, мутации лекарственной устойчивости, генетические барьеры резистентности

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций (протокол № 3 от 17.06.2016).

Благодарность. Авторы выражают признательность сотрудникам Уральского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД к.м.н. А.В. Устюжанину, к.м.н. А.В. Новосёлову, к.м.н. Е.И. Сисину, Л.Б. Санниковой, Е.В. Болгаровой, Н.С. Демчук, принимавшим участие в проведении данного исследования.

Источник финансирования. Финансирование исследования осуществлялось за счёт субсидии на выполнение НИР (регистрационный номер в ЕГИСУ НИОКТР 121041500042-8) п. 1.2.1 отраслевой программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней».

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

Для цитирования: Питерский М.В., Гусев А.Г., Ходаков О.А., Захарова Ю.А., Семенов А.В. Разнообразие субтипов, филогенетический анализ и изучение лекарственной устойчивости штаммов ВИЧ-1, циркулирующих в Уральском федеральном округе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):38–53. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-178>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-178>

HIV-1 subtype diversity, phylogenetic analysis and study of drug resistance in strains circulating in the Ural Federal District

Mikhail V. Piterskiy[✉], Anton G. Gusev, Oleg A. Khodakov,
Yuliya A. Zakharova, Alexander V. Semenov

Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”,
Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. Ural Federal District (UFD) has been one of the most HIV-affected areas in the Russian Federation during past 20 years. The total number of people living with HIV/AIDS (PLWH) and receiving antiretroviral therapy (ART) exceeds 100,000 (61.7% of all PLWH in the UFD), which creates opportunities for the wide spread of resistant HIV strains.

Research aim was to determine the distribution of HIV-1 subtypes, evaluate the genetic heterogeneity of HIV-1 strains, and analyze the prevalence of HIV-1 drug resistance mutations (DRM) and the incidence of acquired resistance to antiretroviral drugs (ARVDs) in PLWH receiving ART in the UFD.

Materials and methods. 223 patients receiving ART at stage III–IV of HIV infection living in the UFD were examined. To determine the subtypes and the DRM in the HIV-1 *pol* gene, molecular genetic studies were performed using the AmpliSense® HIV-Resist-Seq kit by Sanger sequencing on the Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer. The genetic heterogeneity was evaluated by calculating the identity of the genome region of the isolated strains in comparison with the genomes of foreign HIV strains, as well as using phylogenetic analysis.

Results. In the studied group of patients, 5 subtypes of HIV-1 were identified: subtype A6 prevalence was 91.03%, that of subtype B was 2.69%, 3 recombinant subtypes (CRF03_A6B, CRF02_AG, CRF63_02A6) accounted for 6.28%.

Among analyzed HIV-1 strains, 43.9% had a significant genetic similarity (identity of at least 97%) with the strains isolated from patients from neighboring countries (Belarus, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Uzbekistan, Lithuania), 35.9% were similar to the strains isolated from patients from far-abroad countries (USA, China, South Korea, Australia, Sweden, Germany). A high heterogeneity of the circulating genetic variants of HIV-1 strains in the territory of the UFD region was established, which is an unfavorable factor for the diagnosis and treatment of HIV. The most common DRMs to both nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTI) and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI) were detected in 81 specimens (36.3%). NRTI resistance-forming M184V DRM was more common than any other DRM with statistical significance ($p = 0,0008$) and was detected in 88 specimens (39.5%).

Conclusion. In the subtype structure of HIV-1, the dominant subtype was subtype A6, the most common in the countries that were formerly part of the USSR. The heterogeneity of the HIV-1 strains circulating in the UFD suggests that HIV-1 infection continues to be introduced into the UFD from populations outside the Russian Federation. The findings confirm the high prevalence of DRMs (62.8%) and secondary drug resistance of HIV-1 (60.1%) among PLWH in the territory of the UFD. At the same time, high-level resistance was detected in 56.5% of patients, which requires increasing the coverage of HIV resistance testing, including the introduction of monitoring for primary resistance, in order to optimize first-line ART regimens.

Keywords: HIV, subtype, genotype, resistance, drug resistance mutations, genetic barriers to resistance

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The study was approved by the local Ethics Committee of the Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections (Protocol No. 3, June 17, 2016).

Acknowledgements. The authors express their gratitude to the staff of the Ural District Center for AIDS Prevention and Control: Cand. Sci. (Med.) A.V. Ustyuzhanin, Cand. Sci. (Med.) A.V. Novoselov, Cand. Sci. (Med.) E.I. Sisin, L.B. Sannikova, E.V. Bolgarova, N.S. Demchuk, who participated in this study.

Funding source. Financing of the study was carried out at the expense of a subsidy for the implementation of research work (reg. number in the Unified State information system for accounting of research, development and technological

works for civil purposes 121041500042-8) p.1.2.1 of the Rospotrebnadzor sectorial program for 2021–2025 "Scientific support of epidemiological surveillance and sanitary protection of the Russian Federation. Creation of new technologies, means and methods of control and prevention of infectious and parasitic diseases".

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

For citation: Piterskiy M.V., Gusev A.G., Khodakov O.A. Zakharova Yu.A., Semenov A.V. HIV-1 subtype diversity, phylogenetic analysis and study of drug resistance in strains circulating in the Ural Federal District. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):38–53.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-178>

Введение

Увеличение охвата антиретровирусной терапией (АРТ) лиц, живущих с ВИЧ/СПИД (ЛЖВС), идёт достаточно успешно в большинстве стран мира, в том числе с низким и средним уровнем дохода. Следствием такого наращивания является неизбежное появление лекарственной резистентности ВИЧ даже в группах лиц, где поддерживается оптимальная приверженность АРТ, что может свести к минимуму достижения АРТ, направленные на снижение заболеваемости и смертности [1].

Распространение штаммов ВИЧ, резистентных к антиретровирусным препаратам (АРВП), признаётся серьёзной угрозой для достижения амбициозных целей Всемирной организации здравоохранения «95-95-95» к 2025 г. Данная стратегия ЮНЭЙДС заключается в том, что к 2025 г. 95% людей, живущих с ВИЧ, должны знать о своём статусе, из них 95% должны находиться на АРТ и у 95% пациентов, находящихся на АРТ, должна наблюдаться вирусная супрессия [2]. Наиболее быстрый рост лекарственной устойчивости наблюдается в странах Африки. Ориентировочный ежегодный прирост в Восточной Африке достигает 29%, в Южной Африке — 23%. В Западной и Центральной Африке этот прирост составляет около 17% в год, в Латинской Америке — 15%, в Азии — 11% [3]. В странах со средним и низким уровнем дохода рост популяции ВИЧ, резистентного к ингибиторам протеазы (ИП) второй линии, является серьёзным поводом для беспокойства, учитывая ограниченный выбор препаратов для третьей линии АРТ. Анализ лекарственной неэффективности ИП в Тропической Африке показал, что у 17% пациентов наблюдалась хотя бы одна мажорная мутация лекарственной устойчивости к ИП. Такие же данные были получены в Южной Африке, где около 16% пациентов имели мутации лекарственной устойчивости (МЛУ) к ИП [4].

Резистентность ВИЧ к препаратам сразу нескольких групп имеет особое значение, т.к. это существенно сокращает возможность терапии. Из-за низкой приверженности терапии некоторых категорий пациентов, а также возможности передачи резистентных штаммов ВИЧ лечение может не давать положительных результатов у 16–27% пациентов, не получавших АРТ, и у 50–70% ранее лечившихся больных [5].

Молекулярно-генетический мониторинг, необходимый для оценки эффективности АРТ, выявления приобретённой и первичной резистентности ВИЧ к АРВП в странах с низким и средним уровнем дохода, до сих пор является малодоступным. В связи с этим стремительно снижается эффективность препаратов первой и второй линий АРТ [6, 7].

Мониторинг распространённости и структуры МЛУ ВИЧ способствует определению эффективных схем АРТ, улучшению процесса принятия клинических решений и поддержке мероприятий по изменению поведения ЛЖВС, необходимых для достижения контроля над эпидемией ВИЧ [7].

Внутренние инвестиции в ответные меры на распространение ВИЧ в странах с низким и средним уровнем дохода не растут с 2017 г. В 2019 г. на борьбу с ВИЧ было выделено 18,6 млрд долл., что почти на 30% меньше, чем 26 млрд долл., которые были обещаны на 2020 г. В марте 2021 г. Координационным советом программы ЮНЭЙДС была принята новая «Глобальная стратегия противодействия СПИДу на период 2021–2025 гг.», которая нацелена на устранение неравенства, способствующего распространению эпидемии СПИДа, и оказание приоритетной помощи тем людям, которые ещё не получают жизненно важные услуги, связанные с ВИЧ [2].

В России в рамках реализации Государственной стратегии противодействия распространению ВИЧ проводится масштабное увеличение охвата ВИЧ-инфицированных лиц АРТ, что создаёт предпосылки для формирования и распространения штаммов ВИЧ, резистентных к АРВП.

Уральский федеральный округ (УФО) является одной из наиболее эпидемиологически неблагополучных территорий в Российской Федерации по ВИЧ-инфекции. Так, распространённость ВИЧ-инфекции по состоянию на 31.12.2020 в УФО достигла 1470⁰/₀₀₀₀ и превысила аналогичный показатель по России (755,8⁰/₀₀₀₀) в 1,95 раза. Несмотря на столь неблагополучную эпидемиологическую обстановку по ВИЧ-инфекции в УФО и широкий охват ЛЖВС АРТ (с 23,6% в 2013 г. до 61,7% в 2019 г. [8]), отсутствуют исследования, описывающие субтипую структуру и резистентность штаммов ВИЧ, циркулирующих на данной территории.

Цель исследования — определить субтипую структуру штаммов ВИЧ, циркулирующих на терри-

тории УФО, оценить генетическую гетерогенность выделенных штаммов ВИЧ, провести анализ распространённости МЛУ к АРВП и частоты возникновения резистентности ВИЧ у лиц, получающих АРТ.

Материалы и методы

С 2016 по 2019 г. было обследовано более 400 человек с ВИЧ-инфекцией, клинический материал от которых был направлен из медицинских учреждений УФО в Уральский окружной центр по профилактике и борьбе со СПИД Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Все обследованные дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Для соответствия целям исследования в качестве критериев отбора пациентов в группу использовали следующие показатели: возраст от 18 лет и старше, стадия ВИЧ-инфекции не ниже III (в соответствии с клинической классификацией, предложенной В.В. Покровским [9]), уровень вирусной нагрузки более 500 копий РНК ВИЧ в 1 мл. Указанным критериям соответствовали образцы от 223 лиц, состоящих на диспансерном учёте по ВИЧ-инфекции в медицинских учреждениях УФО, в том числе: Свердловская область — 27 пациентов, Челябинская область — 76, Тюменская область — 59, Курганская область — 61.

Значения возраста, вирусной нагрузки ВИЧ и длительности приёма АРВП не имели нормального распределения — критерий Шапиро–Уилка $W = 0,9672$ ($p < 0,0001$), $W = 0,9854$ ($p = 0,0221$) и $W = 0,8995$ ($p < 0,0001$) соответственно.

Возраст пациентов, включённых в исследование, варьировал от 21 до 64 лет, медиана составляла 36 лет, межквартильный интервал (МКИ) — 32–41 год. Среди обследованных пациентов лица мужского пола составили 55,6%.

Размах значений вирусной нагрузки в образцах составил от 2,72 до 6,65 lg копий РНК ВИЧ в 1 мл крови, медиана — 4,41, МКИ — 3,76–5,00.

Стадии ВИЧ-инфекции в исследуемой выборке распределились следующим образом: 3-я стадия — 13,0%, 4-я стадия — 87,00%, в том числе 4А — 44,8%, 4Б — 22,0%, 4В — 20,2% (табл. 1).

Все пациенты, включённые в исследование, имели опыт приёма АРВП, однако длительность приёма всех схем АРВП за весь период с момента выявления ВИЧ-инфекции была установлена только у 183 пациентов и находилась в диапазоне 1–142 мес, при этом медиана составляла 31 мес, МКИ — 14–70 мес. У всех пациентов на момент обследования диагностирована вирусологическая неэффективность лечения, выразившаяся либо в росте вирусной нагрузки в первые 6 мес АРТ, либо в не снижаемом уровне вирусной нагрузки ниже 500 копий на 1 мл при приёме текущей схемы АРТ более 6 мес.

Выделение нуклеиновых кислот производили с помощью комплекта реагентов для выделения «РИБО-преп», обратную транскрипцию полученных фрагментов РНК выполняли с использованием комплекта реагентов для получения кДНК на матрице РНК «РЕВЕРТА-L».

Уровень вирусной нагрузки ВИЧ-1 в плазме крови определяли с помощью набора реагентов для количественного определения РНК ВИЧ-1 «АмплиСенс® ВИЧ-Монитор-FRT» (ЦНИИ Эпидемиологии) на амплификаторе «Rotor-Gene 6000» («Corbett Research Pty Ltd.»).

Мутации устойчивости ВИЧ-1 к АРВП выявляли методом секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol*, кодирующего протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, с использованием тест-системы «АмплиСенс® HIV-Resist-Seq» (ЦНИИ Эпидемиологии). Электрофорез высокого разрешения очищенных фрагментов с флюоресцирующими терминаторами проводили с помощью генетического анализатора «Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer» («Life Technologies»).

Обработку электрофореграмм и получение консенсусной последовательности осуществля-

Таблица 1. Характеристики обследуемых пациентов по регионам УФО

Table 1. Characteristics of the examined patients by region in the Ural Federal District

Регион Region	n	Возраст, медиана лет (МКИ) Age, mediana years (IQR)	Стадия, % Stage, %				Вирусная нагрузка, медиана lg копий в мл (МКИ) Viral load, mediana lg copies per ml (IQR)
			3	4А	4Б	4В	
Курганская область Kurgan region	61	36 (32–40)	18,0	57,4	9,8	14,8	4,38 (3,64–4,91)
Свердловская область Sverdlovsk region	27	35 (31–39)	3,7	55,6	40,7	0,0	4,32 (4,02–5,03)
Тюменская область Tyumen region	58	34 (31–40)	27,6	22,4	22,4	27,6	4,37 (3,52–4,97)
Челябинская область Chelyabinsk region	76	39 (34–42)	0,0	48,7	25,0	26,3	4,43 (3,88–5,08)
Всего Total	223	36 (32–41)	13,0	44,8	22,0	20,2	4,41 (3,76–5,00)

ли с использованием программного обеспечения «Деона 1.2.3» («МАГ»), для дальнейшего анализа использовали сервисы Стэнфордского университета «HIVdb Program Genotypic Resistance Interpretation Algorithm» (алгоритм Sierra, версия 3.1.2 от 21.03.2021; база данных HIVdb, версия 9.0 от 22.02.2021).

Все полученные 223 консенсусные нуклеотидные последовательности были депонированы в международный банк генетической информации GenBank¹ Национального центра биотехнологической информации США (NCBI): № МК578517, МК604175, MN116220–MN116224, MN116227–MN116237, MN116239–MN116245, MN116249–MN116258, MN116260–MN116283, MN116285–MN116299, MN116302–MN116303, MN116305–MN116308, MN116310–MN116313, MN116315–MN116320, MN116325–MN116346, MN116348–MN116354, MN116356–MN116382, MN116386–MN116393, MN116395–MN116399, MN116418–MN116426, MN116428–MN116429, MN116431–MN116449, MN116453–MN116454, MW054661–MW054666, MW054669–MW054671, MW054673–MW054674, MW054677–MW054693, MW054695–MW054698.

Выравнивание нуклеотидных последовательностей производили с использованием онлайн-сервиса Clustal Omega². Филогенетическое дерево строили методом ближайшего соседа (neighbour-joining) при модели замен нуклеотидов, подобранной алгоритмом maximum composite likelihood с помощью программного обеспечения MEGA X [10]. Уровень bootstrap-поддержки оценивали в 500 повторах.

Для поиска и парного выравнивания последовательностей использовали онлайн-сервис NCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool)³. В целях автоматизации процесса обращения к сервису NCBI BLAST была написана процедура на языке программирования Python 3.7.5 с использованием модулей Bio.Blast.NCBIWWW и Bio.SeqIO пакета Biopython 1.75⁴.

Для 223 исследуемых последовательностей было выгружено по 1000 последовательностей с наименьшей генетической дистанцией. Для каждой из этих последовательностей была рассчитана относительная идентичность как доля количества совпадающих сайтов в обеих последовательностях (исходной и выгруженной) от количества сайтов, составляющих сумму длин непрерывных областей парного выравнивания последовательностей. Парное выравнивание исходной и выгруженной из

GenBank нуклеотидных последовательностей производили таким образом, чтобы количество совпадений на области непрерывного выравнивания было максимальным, количество разрывов (вставок) стремилось к нулю и ожидаемое количество таких же результатов выравнивания для других последовательностей из GenBank стремилось бы к нулю. Порог относительной идентичности установили на уровнях от 95 до 98%.

Расчёт доверительных интервалов осуществляли по методу Уилсона для уровня ошибки 1-го типа 0,05 [11]. Для подтверждения статистически значимого различия использовали критерии непараметрической статистики (χ^2 , точный критерий Фишера, критерий Манна–Уитни).

Полученные данные обрабатывали с использованием программного продукта «Statistica v.12» («StatSoft Inc.»).

Результаты и обсуждение

В исследуемой группе пациентов доминирующим геновариантом ВИЧ-1 являлся субтип А6, идентифицированный в 203 образцах из 223 (91,03%; 95% ДИ 86,6–94,1), субтип В был выявлен в 2,69% случаев (95% ДИ 1,2–5,7).

На долю рекомбинантных форм ВИЧ-1 пришлось 6,28% (95% ДИ 3,8–10,3). Среди рекомбинантных форм ВИЧ-1 чаще встречались АВ-рекомбинанты (CRF03_A6B) — 7 образцов (3,14%; 95% ДИ 1,5–6,3). Циркулирующие рекомбинантные формы CRF02_AG выявлены в 4 образцах (1,79%; 95% ДИ 0,7–4,5), CRF63_02A6 — в 3 (1,35%; 95% ДИ 0,5–3,9).

Согласно ранее проведённым исследованиям [12–14], в УФО встречались рекомбинантные штаммы CRF01_AE, CRF03_A6B, CRF63_02A6, при этом распространённость рекомбинантных форм ВИЧ в УФО составляла 7,2% (95% ДИ 3,8–10,6), что говорит об отсутствии негативной динамики увеличения доли рекомбинантов.

Преобладание в структуре геновариантов ВИЧ субтипа А6, наиболее распространённого в странах, ранее входивших в состав СССР, является характерной чертой эпидемии ВИЧ в России.

Для оценки влияния фактора межгосударственного заноса ВИЧ-инфекции была проведена оценка идентичности геномов штаммов ВИЧ, циркулирующих в УФО и выделенных от пациентов в других странах. С этой целью был проведён поиск родственных геномов ВИЧ среди нуклеотидных последовательностей, загруженных в базу данных GenBank, для нуклеотидной последовательности каждого штамма ВИЧ из исследуемой выборки.

Относительную идентичность не менее 97% имели 98 нуклеотидных последовательностей штаммов ВИЧ из исследуемой выборки (43,9%; 95% ДИ 35,9–48,5) с геномами ВИЧ, выделенными

¹ URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>

² URL: <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo>

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

⁴ URL: <https://biopython.org>

от пациентов из стран ближнего зарубежья, входивших в состав СССР (Беларусь, Казахстан, Кыргызстан, Узбекистан, Литва и др.), и 80 нуклеотидных последовательностей (35,9%; 95% ДИ 28,5–40,6) с геномами ВИЧ, выделенными от пациентов из стран дальнего зарубежья (США, Китай, Южная Корея, Австралия, Швеция, Германия и др.).

Филогенетический анализ проводили в 2 этапа. На первом этапе с помощью алгоритма кластеризации, представленного в разделе «Материалы и методы», построили филогенетическое дерево для исследуемых 223 штаммов. Выбрали наиболее типичных представителей для каждого субтипа, ориентируясь на максимальный уровень bootstrap-поддержки узла в кластере субтипа. Такими последовательностями явились субтип А6 — MN116366 (уровень поддержки 100), субтип В — MN116297 (уровень поддержки 100), циркулирующий рекомбинантный штамм CRF03_А6В — MN116373 (уровень поддержки 77), циркулирующий рекомбинантный штамм CRF02_АG — MN116439 (уровень поддержки 100), циркулирующий рекомбинантный штамм CRF63_02А6 — MN116439 (уровень поддержки 50).

На втором этапе произведён филогенетический анализ, включающий 1574 нуклеотидные последовательности, в том числе 223 штамма ВИЧ из исследуемой выборки и 1351 родственный штамм ВИЧ (с относительной идентичностью более 97%), найденных в GenBank. Новое выравнивание и кластеризация для построения филогенетического дерева были произведены с использованием методов, указанных в разделе «Материалы и методы» (рис. 1).

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *pol* ВИЧ-1 выявил 8 больших кластеров ($n_{1,1} = 861$; $n_{1,2} = 84$; $n_{1,3} = 81$; $n_{1,4} = 71$; $n_{1,5} = 49$; $n_{1,6} = 176$; $n_{1,7} = 106$, $n_{1,8} = 88$) и 6 малых ($n_{2,1} = 16$; $n_{2,2} = 4$; $n_{2,3} = 9$; $n_{2,4} = 5$; $n_{2,5} = 7$; $n_{2,6} = 5$).

Наибольший кластер ($n_{1,1} = 861$) составили штаммы ВИЧ, выделенные на территориях Таджикистана, Кыргызстана, Узбекистана и России в 2008–2020 гг. Также в него вошли 2 нуклеотидных последовательности из США (2006 г., штат Нью-Йорк: DQ465230, 2018 г.: MG941697) [15, 16], 2 последовательности из Китая (2008 г., Гуанчжоу: MN908878; 2017 г.: Синьцзян-Уйгурский автономный район: MF325056 [17]), 2 последовательности из Южной Кореи (2009 г.: GQ290726, GQ290743) [18], 2 последовательности из Австралии (2012 г.: KC238223, KC238273) [19], 1 последовательность из Армении (2013 г.: KF720939), 1 из Швеции (2010 г.: MF373150) [20] и 1 из Германии (2008 г.: MN471090) [21].

Кластер n1.6 (176 последовательностей), помимо последовательностей из России, Украины, Казахстана, Киргизии, Беларуси и Узбекиста-

на, вошли последовательности из Чехии (2008 г.: EU672692, EU672610, 2011 г.: JN229155, AY694336, AY694248), Швеции (2004 г.: GQ400591, 2012 г.: KY386787) [22], Соединённого Королевства (2008 г.: GQ462157, 2010 г.: KX662399) [23], Литвы (2012 г.: JX946632) [24], Польши (2015 г.: KT340202), Кипра (2003–2006 гг.: EU673389) [25] и Армении (2009 г.: KF720944, KF720945, KF720950, KF720952, KF720954, KF720956).

В состав другого большого кластера ($n_{1,7} = 106$), помимо последовательностей из России, вошли последовательности из США, в том числе полученные в 1978–1990 гг. (1978 г., «нулевой пациент»: KJ704795 [26]; 1984 г.: KT168124 [27], 1981 г.: KT168102 [27]; 1987 г.: KF469945, KF469953, KF469956 [28]; 1990 г.: KF469991 [28]). Кроме того, в состав этого кластера вошли последовательности из Соединённого Королевства (2006 г.: KU142995 [29], 2014 г.: MT571195 [30]), Эквадора (2004 г.: KC340192), Нидерландов (2012 г., МСМ, Амстердам: JQ650746, JQ650814) [31], Венесуэлы (2009 г.: GU807516) [32] и Польши (2004 г.: GQ399320) [33].

Интерес представляет ещё один кластер ($n_{1,8} = 88$), содержащий в составе, помимо последовательностей из России, Таджикистана, Казахстана и Беларуси, последовательности из Литвы (2012 г.: JX946627, JX946634, JX946637, JX946640, JX946642, JX946644) [24] и Испании (2007 г., Валенсия: MF403382, 2012 г., Валенсия: MF403353, MF403358, MF403376) [34].

Генетическая близость штаммов ВИЧ, циркулировавших на территории УФО в 2016–2019 гг., со штаммами, выделенными от пациентов из других стран в более ранние годы, свидетельствует о многочисленных заносах инфекции в результате миграционных процессов (преимущественно международная трудовая и туристическая миграция). Гетерогенность генетической структуры штаммов ВИЧ на территории УФО создаёт предпосылки для снижения эффективности применяемых диагностических тест-систем для определения резистентности ВИЧ за счёт минорных субпопуляций ВИЧ, образующихся вследствие суперинфицирования [35].

В проведённом исследовании также была проанализирована распространённость комбинаций МЛУ и комбинаций генотипической резистентности. Такой подход потребовал раздельного анализа МЛУ и генотипической резистентности.

Наличие хотя бы одной мутации лекарственной устойчивости было обнаружено в 140 из 223 образцов (62,8%; 95% ДИ 56,3–68,9). Наиболее распространёнными оказались мутации к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (ННИОТ) и к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (НИОТ), которые встретились в 119 (53,4%; 95% ДИ 46,8–59,8) и 105 образцах (47,1%; 95% ДИ 40,6–53,6) соответственно. МЛУ к ИП

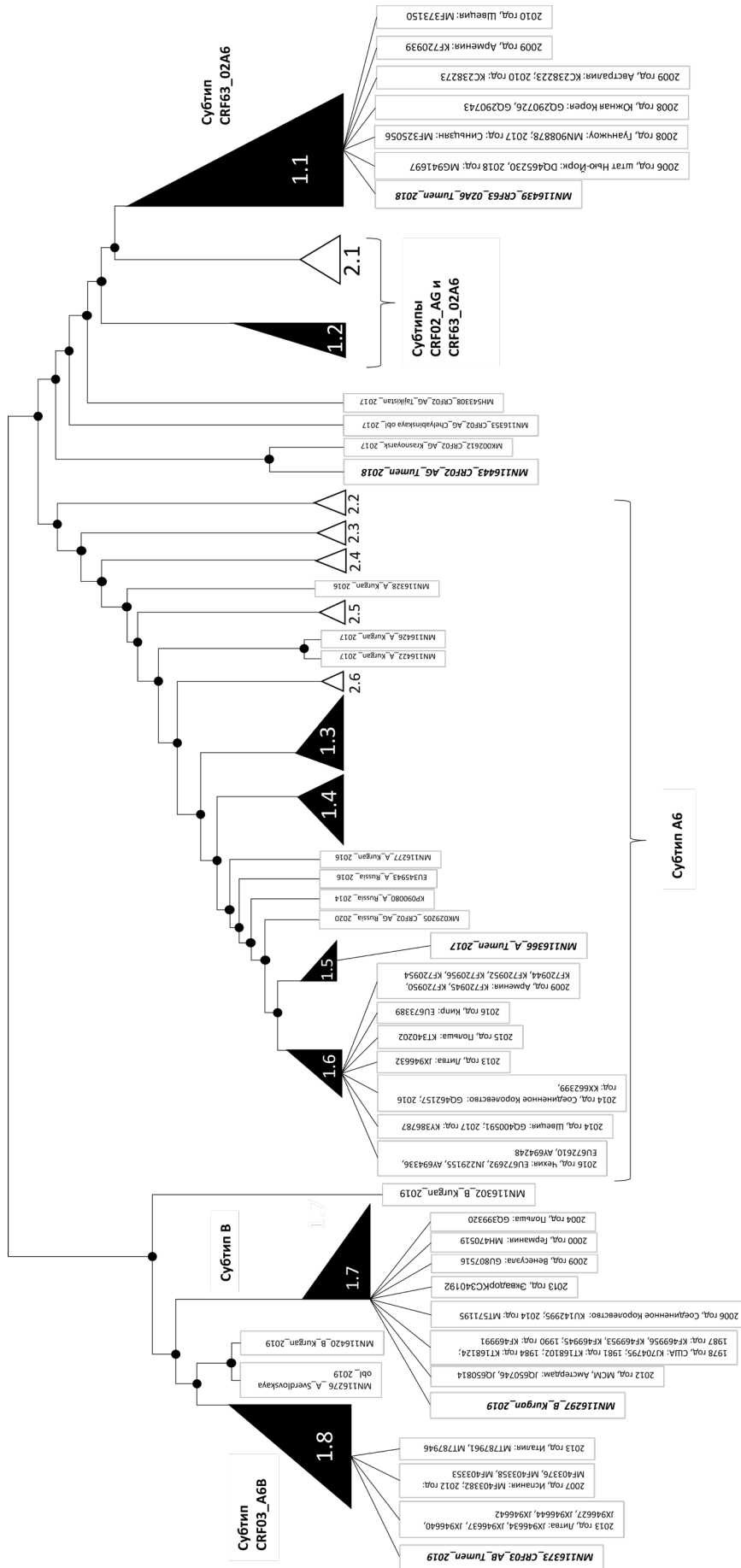


Рис. 1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *pol*/ВИЧ-1, выделенных от инфицированных пациентов, проживающих на территории УФО, в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank.

Наиболее типичные представители исследуемой выборки выделены курсивом и жирным шрифтом. Большие кластеры (>20 последовательностей) — чёрные треугольники, малые кластеры (<20 последовательностей) — белые треугольники. Цифры в треугольниках отражают нумерацию кластеров.

Fig. 1. Phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of a fragment of the HIV-1 *pol* gene isolated from infected patients living in the Ural Federal District in comparison with the sequences presented in the GenBank international database.

The most typical representatives of the studied sample are shown in *italics* and **bold**. Large clusters (>20 sequences) are black triangles, small clusters (<20 sequences) are white triangles. The numbers in the triangles are the numbering of the clusters.

регистривали существенно реже — в 26 случаях (11,7%; 95% ДИ 8,1–16,5). В 9 образцах (4,0%; 95% ДИ 2,1–7,5) были обнаружены аминокислотные замены *M184I*, формирующие устойчивость как к НИОТ, так и к ННИОТ.

Комбинации мутаций одновременно к НИОТ и ННИОТ были выявлены в 81 образце (36,3%; 95% ДИ 30,3–42,8). МЛУ одновременно к ИП и НИОТ, а также к ИП и ННИОТ встречались значительно реже: в 9 (4,0%; 95% ДИ 2,1–7,5) и в 1 образце (0,45%; 95% ДИ 0,1–2,5) соответственно. В 11 образцах (4,9%; 95% ДИ 2,8–8,6) были выявлены МЛУ ко всем классам АРВП.

Среди мутаций, формирующих резистентность только к одному из классов АРВП, в 26 образцах (11,7%; 95% ДИ 8,1–16,5) выявлены МЛУ к ННИОТ, в 7 образцах (3,1%; 95% ДИ 1,5–6,3) — к НИОТ, в 5 образцах (2,2%; 95% ДИ 1,0–5,1) — к ИП.

Количество мутаций только к одному из классов АРВП не превышало 2 МЛУ в 1 образце (табл. 2).

Частота МЛУ только к ННИОТ показала статистически значимое превышение над частотой изо-

лированных МЛУ только к ННИОТ ($\chi^2 = 11,8$; $df = 1$; $p = 0,00059$).

Число МЛУ, одновременно выявленных в одном образце, было в среднем в 2 раза больше среди мужчин, чем среди женщин (критерий Манна–Уитни $U = 3702$; $Z = 5,09$; $p < 0,0001$, $n_1 = 124$, $n_2 = 99$). Представленная выборка не позволяет доказать влияние гендерного фактора на развитие полирезистентности ВИЧ, однако полученные результаты целесообразно принять во внимание при более масштабных исследованиях.

Установлено, что пациенты, от которых выделен вирус, имеющий комбинации МЛУ к 2 или 3 АРВП, в среднем на 3 года 4 мес (по медиане на 3 года) старше пациентов, от которых выделен вирус, не имеющий МЛУ ($U = 3157$; $Z = 2,97$; $p = 0,003$; $n_1 = 102$; $n_2 = 83$) (рис. 2). Данный факт может быть обусловлен ростом шанса ко- или суперинфицирования резистентным штаммом при более длительном рискованном поведении. Вместе с тем нельзя исключать обусловленное возрастом снижение функциональных возможностей иммунной системы подавлять отдельные субпопуляции ВИЧ-1,

Таблица 2. Распределение мутаций лекарственной устойчивости в исследованных образцах к основным классам АРВП

Table 2. Distribution of drug resistance mutations (DRM) to the main classes of antiretroviral drugs (ARVDs) in the studied samples

Количество МЛУ в образце The amount of DRM in the sample	Количество образцов / Number of samples							всего total
	МЛУ только к ННИОТ DRM only to NNRTI	МЛУ только к НИОТ DRM only to NRTI	МЛУ только к ИП DRM only to PI	МЛУ к НИОТ и ННИОТ DRM to NNRTI & NRTI	МЛУ к ИП и НИОТ DRM to PI & NRTI	МЛУ к ИП и ННИОТ DRM to PI & NNRTI	МЛУ ко всем классам DRM for all classes	
1	22	6	5	–	–	–	–	33
2	4	1	–	16	2	–	–	23
3	–	–	–	21	1	1	–	23
4	–	–	–	16	1	–	2	19
5	–	–	–	13	–	–	1	14
6	–	–	–	4	1	–	4	9
7	–	–	–	5	3	–	1	9
8	–	–	–	4	1	–	1	6
9	–	–	–	2	–	–	–	2
12	–	–	–	–	–	–	1	1
14	–	–	–	–	–	–	1	1
Итого Total	26	7	5	81	9	1	11	140

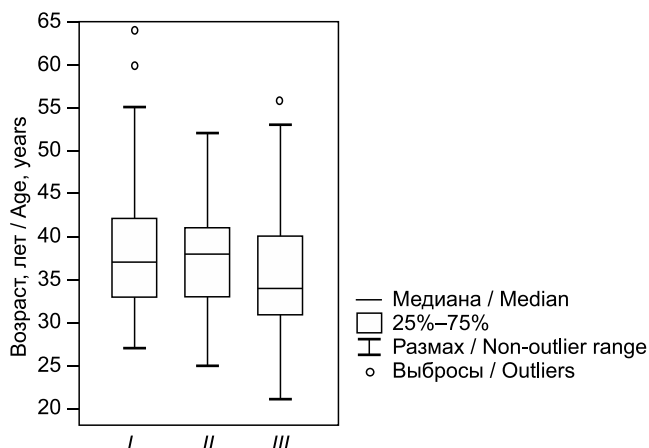


Рис. 2. Возраст пациентов, инфицированных штаммами ВИЧ: с МЛУ к нескольким классам АРВП (I), только к 1 классу АРВП (II), без МЛУ (III).

Fig. 2. The box plot of the patient's age depending on the occurrence of DRMs to several classes of antiretroviral drugs (I), DRMs only to one class of antiretroviral drugs (II) and without DRMs (III).

возникающее на горизонте 3 лет. Статистически значимая разница в длительности лечения указанных групп пациентов отсутствовала ($U = 1268,5$; $Z = -1,13$; $p = 0,2582$; $n_1 = 98$; $n_2 = 55$).

Корреляционный анализ между длительностью приёма АРВП и количеством МЛУ не выявил значимой связи — коэффициент корреляции Спирмена составил 0,039.

Среди 140 образцов, содержащих МЛУ, количество одновременно выявляемых МЛУ варьировало от 1 до 14, при этом медиана составила 3 МЛУ,

а межквартильный интервал находился в диапазоне 2–5. В общей сложности выявлено 70 вариантов МЛУ, которые встретились 503 раза (табл. 3). Аминокислотные замены, приводящие к МЛУ, в гене протеазы возникали в 17 позициях, в гене обратной транскриптазы — в 27 позициях.

Наиболее распространённой является аминокислотная замена *M184V*, формирующая резистентность ВИЧ к НИОТ, которая встречалась чаще любой другой МЛУ и была выявлена в 88 образцах (39,5%; 95% ДИ 33,3–46,0). Среди МЛУ к ННИОТ наиболее распространённой была аминокислотная замена *G190S*, выявленная в 55 образцах (34,7%; 95% ДИ 19,5–30,7).

Самой частой МЛУ ВИЧ-1 к ИП являлась минорная мутация *L33F*, выявленная в 13 образцах (5,8%; 95% ДИ 3,4–9,7). Среди мажорных мутаций к ИП самыми частыми оказались замены *M46I*, наблюдавшиеся в 9 образцах (4,0%; 95% ДИ 2,1–7,5), и *I50L* — в 7 образцах (3,1%; 95% ДИ 1,5–6,3).

МЛУ к ИП, несмотря на самую низкую частоту обнаружения, характеризовались широким разнообразием аминокислотных замен — 23 варианта (33,3% от всех вариантов МЛУ; 95% ДИ 23,4–45,1), сопоставимым с количеством вариантов МЛУ к НИОТ — 26 вариантов (37,3%; 95% ДИ 27,2–49,5) и ННИОТ — 19 вариантов (27,5%; 95% ДИ 18,4–39,0).

С точки зрения преодоления генетического барьера резистентности наиболее интересны мутации, возникающие изолированно, вне комбинаций с другими МЛУ. Всего было выявлено 11 таких мутаций в 33 образцах. Наиболее распространённой изоли-

Таблица 3. Мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1, выявленные при исследовании штаммов, выделенных от пациентов, получавших лечение на территории УФО, %

Table 3. HIV-1 drug resistance mutations identified in strains isolated from treated patients in the Ural Federal District

МЛУ DRMs	Класс АРВП ARVDs class	Годы обследования / Survey years				Спарклайны Sparklines	Доля в структуре Proportion in structure
		2016	2017	2018	2019		
L210W	NRTI	0,6	0,0		1,2		0,8
L74I	NRTI	0,0	1,5	0,0			2,6
L74V	NRTI	4,4	3,0	2,4	1,2		2,6
M184V	NRTI	18,8	19,1	14,6	12,2		0,2
M41L	NRTI	1,1	2,0	0,0	1,2		0,2
T215F	NRTI	1,7	1,0	2,4	0,0		1,2
T215I	NRTI	0,6	0,0	0,0			1,2

Окончание табл. 3 на следующей странице.

End of Table 3 see on the next page.

Окончание табл. 3.
 End of Table 3.

МЛУ DRMs	Класс АРВП ARVDs class	Годы обследования / Survey years				Спарклайны Sparklines	Доля в структуре Proportion in structure
		2016	2017	2018	2019		
T215Y	NRTI	0,6	1,0	2,4	1,2		1,2
V75I	NRTI	0,0	0,5	0,0	1,2		0,2
Y115F	NRTI	1,7	3,5	0,0	2,4		0,2
M184I	NRTI + NNRTI	0,0	1,0	4,9	6,1		0,2
F53L	PI	1,1	1,5	0,0			0,2
G48A	PI	0,0	0,5	0,0			10,9
I47A	PI	0,0	0,5	0,0			1,0
I47IV	PI	0,0	0,0		1,2		1,0
I47V	PI	1,1	0,0	2,4	0,0		1,0
I50L	PI	2,2	1,0	2,4	0,0		1,0
I50V	PI	0,0	0,5	0,0			1,0
I54L	PI	0,6	0,5	0,0			1,0
I54V	PI	0,0	0,5	0,0			1,0
I84V	PI	0,0	0,5	0,0			1,0
K20T	PI	1,1	0,0	0,0			0,2
L10F	PI	0,6	1,0	2,4	0,0		0,8
L33F	PI	3,9	2,5	2,4	0,0		2,6
L76V	PI	1,1	0,5	0,0	1,2		0,8
L89V	PI	1,1	0,0	0,0			0,4
L90M	PI	0,6	0,0	0,0			0,2
M46I	PI	1,7	2,5	0,0	1,2		1,8
M46L	PI	0,0	0,5	0,0			0,2
N83D	PI	0,6	0,0	0,0			0,2
Q58E	PI	1,1	1,5	2,4	0,0		1,2
V32I	PI	0,0		2,4	0,0		0,2
V82A	PI	0,6	1,0	0,0			0,6
V82F	PI	0,6	0,0	0,0			0,2
<i>n</i>		181	199	41	82		503

рованной МЛУ оказалась замена *K103N*, формирующая резистентность к ННИОТ, которая встречалась в изолированном виде в 11 образцах (4,9%; 95% ДИ 2,8–8,6), в комбинациях — в 24 образцах (10,8%; 95% ДИ 7,3–15,5). Распространённость МЛУ в изолированном виде свыше 1% (3 и более образцов) была выявлена для *M184V*, *G190S*, *K103N*, *E138A*, *L33F*. Только одна МЛУ *G48A*, формирующая устойчивость к ИП, была выявлена вне комбинаций и не встречалась совместно с другими МЛУ.

Таким образом, МЛУ ВИЧ, наиболее часто выявляемые в нашем исследовании (*M184V*, *G190S*, *L33F*), соответствуют МЛУ ВИЧ, наиболее распространённым в России [12, 36–41].

Известно, что МЛУ ВИЧ формируют различные уровни резистентности, влияющие на эффективность терапии тем или иным АРВП [42]. Резистентность низкого, среднего и высокого уровня к АРВП была зарегистрирована нами в 134 образцах (60,1%; 95% ДИ 53,5–66,3). Количество препаратов (по международным непатентованным наименованиям (МНН)), к которым имела резистентность ВИЧ, варьировало от 1 до 19, медиана 8 (МКИ от 4,25 до 11). При этом резистентность высокого уровня к АРВП выявлена в 126 образцах (56,5%; 95% ДИ 49,9–62,8) с медианой по числу МНН 4,5 (МКИ 3,25–7,0, размах 1–13).

При оценке профиля резистентности ВИЧ к группам АРВП установлено, что в большинстве случаев — 82 образца (36,8%; 95% ДИ 30,7–43,3) — резистентность высокого уровня обнаруживается одновременно к ННИОТ и НИОТ. Резистентность высокого уровня только к ННИОТ выявлена в 19 образцах (5,5%; 95% ДИ 5,5–12,9), только к НИОТ — в 6 образцах (2,7%; 95% ДИ 1,2–5,7). Резистентность высокого уровня к ИП только в 1 образце была представлена в отсутствие комбинаций с другими классами АРВП. В сочетании с резистентностью высокого уровня к НИОТ резистентность к ИП была выявлена в 9 образцах (2,1%; 95% ДИ 2,1–7,5). Резистентность высокого уровня одновременно ко всем классам АРВП была выявлена также в 9 образцах (2,1%; 95% ДИ 2,1–7,5).

В исследуемой выборке была обнаружена резистентность ко всем 20 АРВП, анализируемым «Алгоритмом интерпретации генотипической резистентности программы HIVdb» Стенфордского университета. При этом резистентность высокого уровня была выявлена к 18 АРВП.

Наиболее часто резистентность высокого уровня выявлялась к невирапину (ННИОТ) — в 102 образцах (45,7%; 95% ДИ 39,3–52,3). В равном количестве образцов наблюдалась резистентность высокого уровня к эфавирензу (ННИОТ), эмтрицитабину (НИОТ) и ламивудину (НИОТ) — по 97 образцов (43,5%; 95% ДИ 37,2–50,1). Резистентность высокого уровня с частотой выше 10% выявлена к

рилпивирину (ННИОТ) в 46 образцах (20,6%; 95% ДИ 15,8–26,4), диданозину (НИОТ) в 40 образцах (17,9%; 95% ДИ 13,5–23,5), абакавиру (НИОТ) в 39 образцах (17,5%; 95% ДИ 13,1–23,0) и к доравирину (ННИОТ) в 28 образцах (12,6%; 95% ДИ 8,8–17,5).

Доля образцов, имеющих штаммы ВИЧ с генотипической резистентностью высокого уровня к ИП, не превышала 4,5%, для саквинавира была выявлена в минимальной доле — 1,8%, а для дарунавира и типранавира отсутствовала (табл. 4).

В 68 образцах повторялось 6 наиболее распространённых комбинаций резистентности ВИЧ к АРВП, в 6 образцах была выявлена моноустойчивость к рилпивирину (табл. 5).

Распространённость монорезистентности высокого уровня к рилпивирину среди женщин была существенно выше, чем среди мужчин, по сравнению с комбинированной резистентностью к рилпивирину в данных гендерных группах (точный критерий Фишера $p = 0,0005$).

Заключение

Несмотря на высокий уровень выявляемости субтипа А6 (91,03%) в генетической структуре популяции выявленных штаммов ВИЧ, циркулирующих среди населения УФО, в анализируемых нуклеотидных последовательностях наблюдались различия. Гетерогенность штаммов ВИЧ сформировала распад филогенетического дерева на несколько удалённых кластеров и позволила предположить занос штаммов ВИЧ в УФО из популяций, находящихся за пределами России. Подтверждает данное предположение существенная доля штаммов, имеющих высокий уровень относительной идентичности консервативного участка генома (более 97%) с геномами штаммов ВИЧ из ближнего и дальнего зарубежья: 43,9 и 35,9% соответственно.

Установлена высокая частота встречаемости у штаммов ВИЧ МЛУ (62,8%), при этом у 60,1% выявлена резистентность к одному из АРВП. Выявлено статистически значимое превышение возраста пациентов, образцы которых содержали штаммы с МЛУ одновременно к 2 или 3 классам АРВП, по сравнению с пациентами, в образцах от которых отсутствовали штаммы с МЛУ ($p = 0,003$). Возрастная разница медиан составила 3 года. Выявленная зависимость обуславливает потребность в более глубоком изучении связанных с возрастом функциональных возможностей иммунной системы подавлять отдельные субпопуляции ВИЧ-1 при поддержке АРТ.

Резистентность от низкого до высокого уровня была выявлена ко всем 20 АРВП, анализируемым в HIVdb, при этом резистентность высокого уровня отсутствовала только к двум ИП: дарунавиру и типранавиру.

Резистентность высокого уровня выявлена в 56,5% образцов с медианой по числу МНН

Таблица 4. Спектр генотипической резистентности ВИЧ высокого уровня к АРВП в исследуемой группе пациентов
Table 4. Spectrum of high-level genotypic resistance HIV to ARVDs in the study group of patients

Класс АРВП Class of the ARVDs	АРВП ARVDs	МНН АРВП INN ARVDs	Количество образцов Number of samples	Распространённость резистентности к АРВП Prevalence of resistance to ARVDs (n = 223)		Структура резистентности к АРВП Structure of ARVDs resistance (n = 641)	
				%	95% ДИ / CI _{α=0,05}	%	95% ДИ / CI _{α=0,05}
ИП PI	ATV/r	Атазанавир Atazanavir	10	4,5	2,5–8,1	1,6	0,8–2,8
	FPV/r	Фосампренавир Fosamprenavir	9	4,0	2,1–7,5	1,4	0,7–2,6
	IDV/r	Индинавир Indinavir	6	2,7	1,2–5,7	0,9	0,4–2
	LPV/r	Лопинавир Lopinavir	6	2,7	1,2–5,7	0,9	0,4–2
	NFV	Нельфинавир Nelfinavir	10	4,5	2,5–8,1	1,6	0,8–2,8
	SQV/r	Саквинавир Saquinavir	4	1,8	0,7–4,5	0,6	0,2–1,6
НИОТ NRTI	ABC	Абакавир Abacavir	39	17,5	13,1–23	6,1	4,5–8,2
	AZT	Зидовудин Zidovudine	10	4,5	2,5–8,1	1,6	0,8–2,8
	D4T	Ставудин Stavudine	16	7,2	4,5–11,3	2,5	1,5–4
	DDI	Диданозин Didanosine	40	17,9	13,5–23,5	6,2	4,6–8,4
	FTC	Эмтрицитабин Emtricitabine	97	43,5	37,2–50,1	15,1	12,6–18,1
	LMV	Ламивудин Lamivudine	97	43,5	37,2–50,1	15,1	12,6–18,1
	TDF	Тенофовир Tenofovir	9	4,0	2,1–7,5	1,4	0,7–2,6
ННИОТ NNRTI	DOR	Доравирин Doravirine	28	12,6	8,8–17,5	4,4	3–6,2
	EFV	Эфавиренз Efavirenz	97	43,5	37,2–50,1	15,1	12,6–18,1
	ETR	Этравирин Etravirin	15	6,7	4,1–10,8	2,3	1,4–3,8
	NVP	Невирапин Nevirapine	102	45,7	39,3–52,3	15,9	13,3–18,9
	RPV	Рилпивирин Ralpivirine	46	20,6	15,8–26,4	7,2	5,4–9,4

4,5. Практически в каждом втором образце (доля 43,5–45,7%) выявлялись штаммы ВИЧ с резистентностью высокого уровня к невирапину (ННИОТ), эфавирензу (ННИОТ), эмтрицитабину (НИОТ) и ламивудину (НИОТ). Устойчивость к препаратам из класса ИП встречалась значительно реже (4,5% образцов с резистентностью высокого уровня к ИП), что связано с высоким генетическим барьером возникновения МЛУ к АРВП из этого класса [43, 44].

Широкая распространённость штаммов ВИЧ с резистентностью высокого уровня среди ЛЖВС повышает риск передачи резистентных штаммов и распространения первичной резистентности в

УФО. Следовательно, в УФО существует объективная необходимость определения резистентности ВИЧ до назначения АРТ первой линии АРТ-наивным пациентам прежде всего на поздних стадиях ВИЧ-инфекции. Таким образом, для ранней диагностики развития резистентности ВИЧ к АРВП при существующих схемах АРТ актуальна разработка ПЦР-тест-систем, ориентированных на специфические участки гена *pol*, содержащие МЛУ к указанным АРВП. Данная тест-система позволит с низкими временными и финансовыми затратами установить показания для корректировки наиболее массовой схемы АРТ первого ряда.

Таблица 5. Наиболее распространённые комбинации генотипической резистентности ВИЧ к АРВП**Table 5.** The most common combinations of genotypic resistance HIV to ARVDs

Комбинации генотипической резистентности к АРВП Combinations of genotypic resistance to ARVDs	Количество образцов Number of samples	Распространённость комбинаций Prevalence of combinations (n = 223)	
		%	95% ДИ / CI _{α = 0,05}
[ABC + DDI + FTC + LMV] _{ННИОТ / ННRTI} + [DOR + EFV + ETR + NVP + RPV] _{ННИОТ / ННRTI}	17	7,6	4,8–11,9
[ABC + D4T + DDI + FTC + LMV + TDF] _{ННИОТ / ННRTI} + [DOR + EFV + ETR + NVP + RPV] _{ННИОТ / ННRTI}	15	6,7	4,1–10,8
[EFV + NVP] _{ННИОТ / ННRTI}	12	5,4	3,1–9,2
[ABC + DDI + FTC + LMV] _{ННИОТ / ННRTI} + [DOR + EFV + NVP + RPV] _{ННИОТ / ННRTI}	8	3,6	1,8–6,9
[ABC + AZT + D4T + DDI + FTC + LMV + TDF] _{ННИОТ / ННRTI} + [DOR + EFV + ETR + NVP + RPV] _{ННИОТ / ННRTI}	8	3,6	1,8–6,9
[ABC + FTC + LMV] _{ННИОТ / ННRTI} + [EFV + NVP] _{ННИОТ / ННRTI}	8	3,6	1,8–6,9
Моноустойчивость к RPV / Mono-resistance to RPV	6	2,7	1,2–5,7

Примечание. Обозначения АРВП см. в табл. 3.

Note. ARVDs names see in the Table 3.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Hong S.Y., Nachega J.B., Kelley K., Bertagnolio S., Marconi V.C., Jordan M.R. The global status of HIV drug resistance: clinical and public-health approaches for detection, treatment and prevention. *Infect. Disord. Drug Targets*. 2011; 11(2): 124–33. <https://doi.org/10.2174/187152611795589744>
- WHO. Development of the Global Action Plan on HIV drug resistance, 2017–2021. Geneva; 2017. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255883>
- Chimukangara B., Lessells R.J., Sartorius B., Gounder L., Manyana S., Pillay M., et al. HIV-1 drug resistance in adults and adolescents on protease inhibitor-based antiretroviral treatment in KwaZulu-Natal Province, South Africa. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2021; S2213-7165(21)00249-6. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.10.023>
- Останкова Ю.В., Щемелев А.Н., Зуева Е.Б., Чурина М.А., Валутите Д.Э., Семенов А.В. Молекулярная эпидемиология и фармакорезистентность ВИЧ у пациентов с вирусологической неэффективностью антиретровирусной терапии в Архангельской области. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2020; 11(4): 79–90. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2019-11-4-79-90>
- Voerma R.S., Bunupuradah T., Dow D., Fokam J., Karimania A., Lehman D., et al. Multicentre analysis of second-line antiretroviral treatment in HIV-infected children: adolescents at high risk of failure. *J. Int. AIDS Soc.* 2017; 20(1): 21930. <https://doi.org/10.7448/ias.20.1.21930>
- Mulu A., Maier M., Liebert U.G. Upward trends of acquired drug resistances in Ethiopian HIV-1C isolates: a decade longitudinal study. *PLoS One*. 2017; 12(10): e0186619. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186619>
- WHO. End inequalities. End AIDS. Global AIDS Strategy 2021–2026. Geneva; 2021. Available at: <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2021/2021-2026-global-AIDS-strategy>
- Алимов А.В., Захарова Ю.А., Питерский М.В., Быков Р.О., Ладыгин О.В. ВИЧ-инфекция на территории Уральского федерального округа. Информационный бюллетень за 2019 г. Екатеринбург; 2020.
- Покровский В.И., Покровский В.В., Юрин О.Г. Клиническая классификация ВИЧ-инфекции. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2001; (1): 7–10.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6): 1547–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Wilson E.B. Probable Inference, the law of succession, and statistical inference. *J. Am. Stat. Assoc.* 1927; (22): 209–12. <https://doi.org/10.2307/2276774>
- Пасечник О.А., Блох А.И. Распространённость рекомбинантных форм ВИЧ-1 в регионах Российской Федерации и стран СНГ: систематический обзор и метаанализ. *Инфекция и иммунитет*. 2018; 8(2): 127–38. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-2-127-138>
- Gashnikova N.M., Astakhova E.M., Gashnikova M.P., Bocharov E.F., Petrova S.V., Pun'ko O.A., et al. HIV-1 epidemiology, genetic diversity, and primary drug resistance in the Tyumen oblast, Russia. *Biomed Res. Int.* 2016; 2016: 2496280. <https://doi.org/10.1155/2016/2496280>
- Казеннова Е.В., Васильев А.В., Лаповок И.А., Гришечкин А.Е., Лага В.Ю., Саламов Г.Г., и др. Генетические варианты ВИЧ-1 в азиатской части России (2005–2010). *Вопросы вирусологии*. 2013; 58(4): 28–35.
- Karchava M., Pulver W., Smith L., Philpott S., Sullivan T.J., Wethers J., et al. Prevalence of drug-resistance mutations and non-subtype B strains among HIV-infected infants from New York State. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2006; 42(5): 614–9. <https://doi.org/10.1097/01.qai.0000225871.87456.e7>
- Rhee S.Y., Clutter D., Fessel W.J., Klein D., Slome S., Pinsky B.A., et al. Trends in the molecular epidemiology and genetic mechanisms of transmitted human immunodeficiency virus type 1 drug resistance in a large US clinic population. *Clin. Infect. Dis.* 2019; 68(2): 213–21. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy453>
- Shu Z., Chen Y., Abudureyimu A., Li T., Yuan T., Ma J., et al. Surveillance of HIV-1 drug resistance in Xinjiang: high prevalence of K103N in treatment-naïve individuals. *Arch. Virol.* 2018; 163(8): 2111–9. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3825-7>
- Chin B.S., Choi J.Y., Han Y., Kuang J., Li Y., Han S.H., et al. Comparison of genotypic resistance mutations in treatment-naïve HIV type 1-infected patients in Korea and China. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2010; 26(2): 217–21. <https://doi.org/10.1089/aid.2009.0157>
- Hawke K.G., Waddell R.G., Gordon D.L., Ratcliff R.M., Ward P.R., Kaldor J.M. HIV non-B subtype distribution: emerging trends and risk factors for imported and local infections newly diagnosed in South Australia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2013; 29(2): 311–7. <https://doi.org/10.1089/aid.2012.0082>

20. Neogi U., Siddik A.B., Kalaghatgi P., Gisslén M., Bratt G., Marone G., et al. Recent increased identification and transmission of HIV-1 unique recombinant forms in Sweden. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 6371. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06860-2>
21. Machnowska P., Meixenberger K., Schmidt D., Jessen H., Hillenbrand H., Gunsenheimer-Bartmeyer B., et al. Prevalence and persistence of transmitted drug resistance mutations in the German HIV-1 Seroconverter Study Cohort. *PLoS One.* 2019; 14(1): e0209605. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209605>
22. Rhee S.Y., Varghese V., Holmes S.P., Van Zyl G.U., Steegen K., Boyd M.A., et al. Mutational correlates of virological failure in individuals receiving a WHO-recommended tenofovir-containing first-line regimen: an international collaboration. *EBioMedicine.* 2017; 18: 225–35. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.03.024>
23. Hughes G.J., Fearnhill E., Dunn D., Lycett S.J., Rambaut A., Leigh Brown A.J. Molecular phylodynamics of the heterosexual HIV epidemic in the United Kingdom. *PLoS Pathog.* 2009; 5(9): e1000590. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000590>
24. Caplinskas S., Loukachov V.V., Gasich E.L., Gilyazova A.V., Caplinskiene I., Lukashov V.V. Distinct HIV type 1 strains in different risk groups and the absence of new infections by drug-resistant strains in Lithuania. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2013; 29(4): 732–7. <https://doi.org/10.1089/aid.2012.0312>
25. Kousiappa I., van de Vijver D.A.M.C., Demetriades I., Kostrikis L.G. Genetic analysis of HIV type 1 strains from newly infected untreated patients in Cyprus: high genetic diversity and low prevalence of drug resistance. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2009; 25(1): 23–35. <https://doi.org/10.1089/aid.2008.0168>
26. Worobey M., Watts T.D., McKay R.A., Suchard M.A., Grnade T., Teuwen D.E., et al. 1970s and ‘Patient 0’ HIV-1 genomes illuminate early HIV/AIDS history in North America. *Nature.* 2016; 539(7627): 98–101. <https://doi.org/10.1038/nature19827>
27. Kinloch N.N., MacMillan D.R., Le A.Q., Cotton L.A., Bangsberg D.R., Buchbinder S., et al. Population-level immune-mediated adaptation in HIV-1 polymerase during the North American epidemic. *J. Virol.* 2016; 90(3): 1244–58. <https://doi.org/10.1128/jvi.02353-15>
28. Maldarelli F., Kearney M., Palmer S., Stephens R., Mican J., Polis M.A., et al. HIV populations are large and accumulate high genetic diversity in a nonlinear fashion. *J. Virol.* 2013; 87(18): 10313–23. <https://doi.org/10.1128/jvi.01225-12>
29. Roberts H.E., Hurst J., Robinson N., Brown H., Flanagan P., Vass L., et al. Structured observations reveal slow HIV-1 CTL escape. *PLoS Genet.* 2015; 11(2): e1004914. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004914>
30. Mbisa J.L., Ledesma J., Kirwan P., Bibby D.F., Manso C., Skingsley A., et al. Surveillance of HIV-1 transmitted integrase strand transfer inhibitor resistance in the UK. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020; 75(11): 3311–8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa309>
31. Lukashov V.V., Jurriaans S., Bakker M., Berkhout B. Transmission of risk-group specific HIV-1 strains among Dutch drug users for more than 20 years and their replacement by nonspecific strains after switching to low-harm drug practices. *JAIDS J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2013; 62(2): 234–8. <https://doi.org/10.1097/qai.0b013e318279734d>
32. Rangel H.R., Garzaro D., Fabbro R., Martinez N., Ossenkop J., Torres J.R., et al. Absence of primary integrase resistance mutations in HIV type 1-infected patients in Venezuela. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2010; 26(8): 923–6. <https://doi.org/10.1089/aid.2010.0039>
33. Vercauteren J., Wensing A.M.J., van de Vijver D.A.M.C., Albert J., Balotta C., Hamouda O., et al. Transmission of drug-resistant HIV-1 is stabilizing in Europe. *J. Infect. Dis.* 2009; 200(10): 1503–8. <https://doi.org/10.1086/644505>
34. Patiño-Galindo J.A., Torres-Puente M., Bracho M.A., Alastrué I., Juan A., Navarro D., et al. The molecular epidemiology of HIV-1 in the Comunidad Valenciana (Spain): analysis of transmission clusters. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 11584. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10286-1>
35. Peeters M., Toure-Kane C., Nkengasong J.N. Genetic diversity of HIV in Africa: impact on diagnosis, treatment, vaccine development and trials. *AIDS.* 2003; 17(18): 2547–60. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000096895.73209.89>
36. Лаповок И.А., Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е., Казеннова Е.В., Лебедев А.В., Бобкова М.Р. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в России в 1987–2015 гг. *Терапевтический архив.* 2017; 89(11): 44–9. <https://doi.org/10.17116/terarkh2017891144-49>
37. Пономарева О.А., Ревизор А.О., Круглова Е.А., Плотникова Ю.К., Наумова Е.С. Генетическое разнообразие ВИЧ-1 на территории Иркутской области. *Лабораторная служба.* 2016; 5(1): 33–7. <https://doi.org/10.17116/labs20165133-37>
38. Елисеева В.С., Кругляк С.П., Складар Л.Ф., Махно Е.С. Распространенность мутаций резистентности ВИЧ-1 к препаратам АРВТ в Приморском крае. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2015; 7(2): 49–54. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2015-7-2-49-55>
39. Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Лебедев А.В., Лага В.Ю., Глушенко Н.В., Зверев С.Я. и др. Анализ резистентности ВИЧ в Приволжском федеральном округе Российской Федерации. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2015; 7(3): 56–66. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2015-7-3-56-66>
40. Парфенова О.В., Пекшева О.Ю., Зайцева Н.Н. Распространение мутаций резистентности и субтипов ВИЧ-1 как показатель динамики эпидемии ВИЧ-инфекции в Приволжском федеральном округе в 2016–2018 гг. *Здоровье населения и среда обитания.* 2019; (8): 50–6. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2019-317-8-50-55>
41. Новак К.Е., Никифорова А.О., Ингабире Т., Зуева Е.Б., Щемелев А.Н., Эсауленко Е.В. и др. Оптимизация профилактики развития мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неэффективностью антиретровирусных препаратов. *Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого.* 2020; 119(3): 47–51.
42. Liu T.F., Shafer R.W. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance shifter interpretation. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42(11): 1608–18. <https://doi.org/10.1086/503914>
43. Lee C.A., Kessler C.M., Varon D., Martinowitz U., Heim M., Condra J.H. Resistance to HIV protease inhibitors. *Haemophilia.* 1998; 4(4): 610–5. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2516.1998.440610.x>
44. Tenore S.B., Ferreira P.R.A. The place of protease inhibitors in antiretroviral treatment. *Brazilian J. Infect. Dis.* 2009; 13(5): 371–4. <https://doi.org/10.1590/s1413-86702009000500012>


REFERENCES

- Hong S.Y., Nachega J.B., Kelley K., Bertagnolio S., Marconi V.C., Jordan M.R. The global status of HIV drug resistance: clinical and public-health approaches for detection, treatment and prevention. *Infect. Disord. Drug Targets.* 2011; 11(2): 124–33. <https://doi.org/10.2174/187152611795589744>
- WHO. Development of the Global Action Plan on HIV drug resistance, 2017–2021. Geneva; 2017. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255883>
- Chimukangara B., Lessells R.J., Sartorius B., Gounder L., Manyana S., Pillay M., et al. HIV-1 drug resistance in adults and adolescents on protease inhibitor-based antiretroviral treatment

- in KwaZulu-Natal Province, South Africa. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.10.023>
4. Ostankova Yu.V., Shchemelev A.N., Zueva E.B., Churina M.A., Valutite D.E., Semenov A.V. Hiv molecular epidemiology and pharmaco-resistance in patients with antiretroviral therapy failure in Arkhangelsk district. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2020; 11(4): 79–90. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2019-11-4-79-90> (in Russian)
 5. Boerma R.S., Bunupuradah T., Dow D., Fokam J., Karimnia A., Lehman D., et al. Multicentre analysis of second-line antiretroviral treatment in HIV-infected children: adolescents at high risk of failure. *J. Int. AIDS Soc.* 2017; 20(1): 21930. <https://doi.org/10.7448/ias.20.1.21930>
 6. Mulu A., Maier M., Liebert U.G. Upward trends of acquired drug resistances in Ethiopian HIV-1C isolates: a decade longitudinal study. *PLoS One.* 2017; 12(10): e0186619. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186619>
 7. WHO. End inequalities. End AIDS. Global AIDS Strategy 2021–2026. Geneva; 2021. Available at: <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2021/2021-2026-global-AIDS-strategy>
 8. Alimov A.V., Zakharova Yu.A., Piterskiy M.V., Bykov R.O., Ladygin O.V. HIV infection in the territory of the Ural Federal District. Newsletter for 2019. Ekaterinburg; 2020. (in Russian)
 9. Pokrovskiy V.I., Pokrovskiy V.V., Yurin O.G. Clinical classification of HIV infection. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni.* 2001; (1): 7–10. (in Russian)
 10. Kumar S., Stecher G., Li M., Nknyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6): 1547–9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
 11. Wilson E.B. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *J. Am. Stat. Assoc.* 1927; (22): 209–12. <https://doi.org/10.2307/2276774>
 12. Pasechnik O.A., Blokh A.I. The prevalence of HIV recombinant forms in Russia and countries of the CIS: systematic review and metaanalysis. *Infektsiya i immunitet.* 2018; 8(2): 127–38. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-2-127-138> (in Russian)
 13. Gashnikova N.M., Astakhova E.M., Gashnikova M.P., Bocharov E.F., Petrova S.V., Pun'ko O.A., et al. HIV-1 epidemiology, genetic diversity, and primary drug resistance in the Tyumen oblast, Russia. *Biomed Res. Int.* 2016; 2016: 2496280. <https://doi.org/10.1155/2016/2496280>
 14. Kazennova E.V., Vasil'ev A.V., Lapovok I.A., Grishchkin A.E., Laga V.Yu., Salamov G.G., et al. Genetic variants of HIV-1 in the Asian part of Russia (2005–2010). *Vopr. Virusol.* 2013; 58(4): 28–35. (in Russian)
 15. Karchava M., Pulver W., Smith L., Philpott S., Sullivan T.J., Wethers J., et al. Prevalence of drug-resistance mutations and non-subtype B strains among HIV-infected infants from New York State. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2006; 42(5): 614–9. <https://doi.org/10.1097/01.qai.0000225871.87456.e7>
 16. Rhee S.Y., Clutter D., Fessel W.J., Klein D., Slome S., Pinsky B.A., et al. Trends in the molecular epidemiology and genetic mechanisms of transmitted human immunodeficiency virus type 1 drug resistance in a large US clinic population. *Clin. Infect. Dis.* 2019; 68(2): 213–21. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy453>
 17. Shu Z., Chen Y., Abudureyimu A., Li T., Yuan T., Ma J., et al. Surveillance of HIV-1 drug resistance in Xinjiang: high prevalence of K103N in treatment-naïve individuals. *Arch. Virol.* 2018; 163(8): 2111–9. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3825-7>
 18. Chin B.S., Choi J.Y., Han Y., Kuang J., Li Y., Han S.H., et al. Comparison of genotypic resistance mutations in treatment-naïve HIV type 1-infected patients in Korea and China. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2010; 26(2): 217–21. <https://doi.org/10.1089/aid.2009.0157>
 19. Hawke K.G., Waddell R.G., Gordon D.L., Ratcliff R.M., Ward P.R., Kaldor J.M. HIV non-B subtype distribution: emerging trends and risk factors for imported and local infections newly diagnosed in South Australia. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2013; 29(2): 311–7. <https://doi.org/10.1089/aid.2012.0082>
 20. Neogi U., Siddik A.B., Kalaghatgi P., Gisslén M., Bratt G., Marone G., et al. Recent increased identification and transmission of HIV-1 unique recombinant forms in Sweden. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 6371. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06860-2>
 21. Machnowska P., Meixenberger K., Schmidt D., Jessen H., Hiltenbrand H., Gunsenheimer-Bartmeyer B., et al. Prevalence and persistence of transmitted drug resistance mutations in the German HIV-1 Seroconverter Study Cohort. *PLoS One.* 2019; 14(1): e0209605. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209605>
 22. Rhee S.Y., Varghese V., Holmes S.P., Van Zyl G.U., Steegen K., Boyd M.A., et al. Mutational correlates of virological failure in individuals receiving a WHO-recommended tenofovir-containing first-line regimen: an international collaboration. *EBioMedicine.* 2017; 18: 225–35. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.03.024>
 23. Hughes G.J., Fearnhill E., Dunn D., Lycett S.J., Rambaut A., Leigh Brown A.J. Molecular phylodynamics of the heterosexual HIV epidemic in the United Kingdom. *PLoS Pathog.* 2009; 5(9): e1000590. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000590>
 24. Caplinskas S., Loukachov V.V., Gasich E.L., Gilyazova A.V., Caplinskiene I., Lukashov V.V. Distinct HIV type 1 strains in different risk groups and the absence of new infections by drug-resistant strains in Lithuania. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2013; 29(4): 732–7. <https://doi.org/10.1089/aid.2012.0312>
 25. Kousiappa I., van de Vijver D.A.M.C., Demetriades I., Kostrikis L.G. Genetic analysis of HIV type 1 strains from newly infected untreated patients in Cyprus: high genetic diversity and low prevalence of drug resistance. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2009; 25(1): 23–35. <https://doi.org/10.1089/aid.2008.0168>
 26. Worobey M., Watts T.D., McKay R.A., Suchard M.A., Granade T., Teuwen D.E., et al. 1970s and 'Patient 0' HIV-1 genomes illuminate early HIV/AIDS history in North America. *Nature.* 2016; 539(7627): 98–101. <https://doi.org/10.1038/nature19827>
 27. Kinloch N.N., MacMillan D.R., Le A.Q., Cotton L.A., Bangsberg D.R., Buchbinder S., et al. Population-level immune-mediated adaptation in HIV-1 polymerase during the North American epidemic. *J. Virol.* 2016; 90(3): 1244–58. <https://doi.org/10.1128/jvi.02353-15>
 28. Maldarelli F., Kearney M., Palmer S., Stephens R., Mican J., Polis M.A., et al. HIV populations are large and accumulate high genetic diversity in a nonlinear fashion. *J. Virol.* 2013; 87(18): 10313–23. <https://doi.org/10.1128/jvi.01225-12>
 29. Roberts H.E., Hurst J., Robinson N., Brown H., Flanagan P., Vass L., et al. Structured observations reveal slow HIV-1 CTL escape. *PLoS Genet.* 2015; 11(2): e1004914. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004914>
 30. Mbisa J.L., Ledesma J., Kirwan P., Bibby D.F., Manso C., Skingsley A., et al. Surveillance of HIV-1 transmitted integrase strand transfer inhibitor resistance in the UK. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020; 75(11): 3311–8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa309>
 31. Lukashov V.V., Jurriaans S., Bakker M., Berkhout B. Transmission of risk-group specific HIV-1 strains among Dutch drug users for more than 20 years and their replacement by nonspecific strains after switching to low-harm drug practices. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2013; 62(2): 234–8. <https://doi.org/10.1097/01.qai.0b013e318279734d>
 32. Rangel H.R., Garzaro D., Fabbro R., Martinez N., Ossenkop J., Torres J.R., et al. Absence of primary integrase resistance mutations in HIV type 1-infected patients in Venezuela. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 2010; 26(8): 923–6. <https://doi.org/10.1089/aid.2010.0039>

33. Vercauteren J., Wensing A.M.J., van de Vijver D.A.M.C., Albert J., Balotta C., Hamouda O., et al. Transmission of drug-resistant HIV-1 is stabilizing in Europe. *J. Infect. Dis.* 2009; 200(10): 1503–8. <https://doi.org/10.1086/644505>
34. Patiño-Galindo J.Á., Torres-Puente M., Bracho M.A., Alastrué I., Juan A., Navarro D., et al. The molecular epidemiology of HIV-1 in the Comunidad Valenciana (Spain): analysis of transmission clusters. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 11584. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10286-1>
35. Peeters M., Toure-Kane C., Nkengasong J.N. Genetic diversity of HIV in Africa: impact on diagnosis, treatment, vaccine development and trials. *AIDS.* 2003; 17(18): 2547–60. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000096895.73209.89>
36. Lapovok I.A., Lopatukhin A.E., Kireev D.E., Kazennova E.V., Lebedev A.V., Bobkova M.R., et al. Molecular epidemiological analysis of HIV-1 variants circulating in Russia in 1987–2015. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2017; 89(11): 44–9. <https://doi.org/10.17116/terarkh2017891144-49> (in Russian)
37. Ponomareva O.A., Revizor A.O., Kruglova E.A., Plotnikova Yu.K., Naumova E.S. Genetic diversity of HIV-1 in the Irkutsk region. *Laboratornaya sluzhba.* 2016; 5(1): 33–7. <https://doi.org/10.17116/labs20165133-37> (in Russian)
38. Eliseeva V.S., Kruglyak S.P., Sklyar L.F., Makhno E.S. Prevalence of HIV-1 drug resistance mutations in Primorsky region. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2015; 7(2): 49–54. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2015-7-2-49-55> (in Russian)
39. Kazennova E.V., Lapovok I.A., Lebedev A.V., Laga V.Yu., Glushchenko N.V., Zverev S.Ya., et al. Analysis of HIV drugs resistance in Privolzhskiy federal district of the Russian Federation. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2015; 7(3): 56–66. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2015-7-3-56-66> (in Russian)
40. Parfenova O.V., Peksheva O.Yu., Zaytseva N.N. Spread of mutations of resistance and HIV-1 subtypes as an indicator of dynamics of HIV epidemic in the Volga Federal District in 2016–2018. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya.* 2019; (8): 50–6. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2019-317-8-50-55> (in Russian)
41. Novak K.E., Nikiforova A.O., Ingabire T., Zueva E.B., Shchemelev A.N., Esaulenko E.V., et al. Optimization of prevention of HIV-1 drug-resistance mutation development in patients with virologic and antiretroviral therapy (art) failure. *Vestnik Novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta im. Yaroslava Mudrogo.* 2020; 119(3): 47–51. (in Russian)
42. Liu T.F., Shafer R.W. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42(11): 1608–18. <https://doi.org/10.1086/503914>
43. Lee C.A., Kessler C.M., Varon D., Martinowitz U., Heim M., Condra J.H. Resistance to HIV protease inhibitors. *Haemophilia.* 1998; 4(4): 610–5. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2516.1998.440610.x>
44. Tenore S.B., Ferreira P.R.A. The place of protease inhibitors in antiretroviral treatment. *Brazilian J. Infect. Dis.* 2009; 13(5): 371–4. <https://doi.org/10.1590/s1413-8670200900050001>

Информация об авторах

Питерский Михаил Валерьевич  — руководитель Уральского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ЕНИИВИ ГНЦ ВБ «Вектор», Екатеринбург, Россия, piterskiy_mv@eniivi.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5506-2389>

Гусев Антон Георгиевич — м.н.с. научно-методического отдела ЕНИИВИ ГНЦ ВБ «Вектор», Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7886-9406>

Ходаков Олег Александрович — стажёр-исследователь лаб. энтеральных вирусных инфекций ЕНИИВИ ГНЦ ВБ «Вектор», Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1493-6080>


Захарова Юлия Александровна — д.м.н., доцент, зам. руководителя по научной работе ЕНИИВИ ГНЦ ВБ «Вектор», Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3416-0902>

Семенов Александр Владимирович — д.б.н., руководитель ЕНИИВИ ГНЦ ВБ «Вектор», Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 06.07.2021;
принята к публикации 10.12.2021;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Mikhail V. Piterskiy  — Head, Ural Federal District AIDS Centre, Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Yekaterinburg, Russia, piterskiy_mv@eniivi.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5506-2389>

Anton G. Gusev — junior researcher, Research methodology department, Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Yekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7886-9406>

Oleg A. Hodakov — trainee researcher, Laboratory of enteric viral infections, Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Yekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1493-6080>

Yuliya A. Zakharova — D. Sci. (Med.), Associated Professor, Deputy Director for academic affairs, Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Yekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3416-0902>

Alexander V. Semenov — D. Sci. (Biol.), Head, Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Yekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 06.07.2021;
accepted for publication 10.12.2021;
published 28.02.2022

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-221>

Роль полиморфизма гена *eNOS* в иммунопатогенезе первичной открытоугольной глаукомы

Свитич О.А.^{1,2}, Кинкулькина А.Р.^{1,2✉}, Авагян А.С.^{1,2}, Гаврилова Т.В.³

¹Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

²Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия;

³Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

Аннотация

Введение. Патологии органа зрения (кератиты, глаукома и др.) занимают ведущее место среди причин снижения зрения и слепоты. По данным литературы, иммунопатогенез бактериальных кератитов связан с активацией макрофагов и кислородным взрывом. Не до конца понятна роль этих механизмов в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы. Есть единичные работы, в которых связывают развитие этой патологии с оксидом азота NO, который продуцируется эндотелиальной NO-синтазой (*eNOS*). Однако, несмотря на многочисленные исследования, роль иммуногенетических в патогенезе глаукомы остаются недостаточно исследованными.

Цель работы — изучение роли полиморфных маркеров *T786C*, *C774T*, *Glu298Asp* гена *eNOS* при развитии ПОУГ у жителей Пермского края.

Материалы и методы. В качестве материала была использована периферическая кровь 93 пациентов с ПОУГ и 96 пациентов с катарактой. Сначала выделяли ДНК, затем проводили полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени. Частоту встречаемости аллелей и генотипов в исследуемых группах рассчитывали при помощи критерия χ^2 и точного критерия Фишера. Статистически значимыми были приняты результаты с $p < 0,05$. Для количественной оценки связи между возникновением ПОУГ у пациентов и носительством неблагоприятного полиморфного маркера были рассчитаны отношение шансов и 95% доверительный интервал.

Результаты. Среди маркеров *C774T* и *Glu298Asp* не выявлено достоверных различий в распределении генотипов и аллелей гена *eNOS*. Установлены повышение частоты встречаемости гомозиготного генотипа *TT*; снижение встречаемости аллеля *C* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* у пациентов с ПОУГ.

Выводы. Полиморфные маркеры гена *eNOS* могут рассматриваться как факторы, влияющие на вероятность возникновения ПОУГ.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, иммунная привилегированность, полиморфные маркеры, эндотелиальная NO-синтаза, первичная открытоугольная глаукома, бактериальные кератиты

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ПМГМУ им. И.М. Сеченова (протокол № 17-19 от 11.12.2019).

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

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

Для цитирования: Свитич О.А., Кинкулькина А.Р., Авагян А.С., Гаврилова Т.В. Роль полиморфизма гена *eNOS* в иммунопатогенезе первичной открытоугольной глаукомы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):54–62.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-221>

The role of eNOS gene polymorphisms in immunopathogenesis of primary open-angle glaucoma

Oksana A. Svitich^{1,2}, Aliya R. Kinkulkina^{1,2✉}, Hasmik S. Avagyan^{1,2}, Tatiana V. Gavrilova³

¹Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

³Academician E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia

Abstract

Introduction. Pathologies of the visual organ (keratitis, glaucoma, etc.) occupy a leading place among the causes of vision loss and blindness. According to the literature, the immunopathogenesis of bacterial keratitis is associated with the activation of macrophages and oxygen explosion. The role of these mechanisms in the pathogenesis of primary open-angle glaucoma is not fully understood. There are isolated studies in which the development of this pathology is associated with nitric oxide NO, which is produced by endothelial NO synthase (nos). However, despite numerous studies, the role of immunogenetics in the pathogenesis of glaucoma remains insufficiently researched.

The **aim** of the study is to explore the association of T786C, C774T, Glu298Asp polymorphic markers of the eNOS gene with development of POAG in residents of the Perm Territory.

Materials and methods. The study was performed using peripheral blood collected from 93 patients with POAG and 96 patients with cataracts. The real-time polymerase chain reaction was performed after the DNA extraction. The frequencies of alleles and genotypes in the study groups were measured using the chi-square (χ^2) test and Fisher's exact test. Results with $p < 0.05$ were seen as statistically significant. The calculated odds ratio and the 95% confidence interval were used to quantify the association between POAG development in patients and the existence of an unfavorable polymorphic marker.

Results. The C774T and Glu298Asp markers did not show any significant differences in the distribution of genotypes and alleles of the eNOS gene. Higher frequencies of the homozygous TT genotype; and lower frequencies of the C allele of T786C polymorphic locus of eNOS gene were detected in patients with POAG.

Conclusion. Polymorphic markers of the eNOS gene can be seen as factors associated with the risk of POAG.

Keywords: endothelial dysfunction, immune privilege, polymorphic markers, endothelial NO synthase, primary open-angle glaucoma

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Sechenov First Moscow State Medical University (Protocol 17-19, December 11, 2019).

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

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

For citation: Svitich O.A., Kinkulkina A.R., Avagyan A.S., Gavrilova T.V. The role of eNOS gene polymorphisms in immunopathogenesis of primary open-angle glaucoma. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):54–62.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-221>

Введение

Глаз обладает системой местного иммунитета, которая обеспечивается несколькими феноменами «иммунной привилегированности»: иммунное отклонение, связанное с передней камерой (anterior chamber associated immune deviation — ACAID) или с задней камерой, феномен субретинального пространства. Наиболее изучен феномен ACAID [1].

Антигенные материалы в передней камере глаза генерируют системный иммунный ответ, который сохраняет первичные клонально расширенные цитотоксические предшественники Т-клеток и В-клетки, секретирующие большие концентрации IgG₁, который является антителом, не фиксиру-

ющим комплемент. С другой стороны, ACAID ингибирует CD4⁺ Th1- и Th2-клетки и В-клетки, секретирующие антитела, фиксирующие комплемент [2].

Антигены из передней камеры глаза, попав в селезёнку, приобретают три типа антигенспецифических Treg, которые опосредуют ACAID. Одна из этих популяций состоит из CD4⁺-Т-клеток, которые известны как афферентные регуляторы. CD4⁺-Т-клетки способны подавлять начальную активацию и дифференцировку наивных Т-клеток в эффекторные клетки Th1. Вторая популяция состоит из CD8⁺-Т-клеток, которые известны как эфферентные регуляторы. CD8⁺-Т-клетки снижают экспрессию Th1-иммунных реакций, при этом тормозят разви-

тие замедленной гиперчувствительности. Третья популяция состоит из CD8⁺-Т-клеток, которые препятствуют В-клеткам переключаться на изотип IgG. Эфферентные CD8⁺-Tregs в AСAID действуют на периферии, в том числе в глазу, тогда как афферентные CD4⁺-Tregs действуют во вторичных лимфоидных органах. В AСAID антигенпрезентирующие клетки индуцируют экспансию толерогенных В-клеток, чтобы индуцировать антигенспецифичные Treg и инвариантные естественные Т-клетки-киллеры, которые дополнительно необходимы для генерации AСAID [2, 3].

Появляется всё больше доказательств того, что резидентные клетки глаза, которые включают эндотелиальные клетки роговицы (СЕ-клетки) и клетки пигментного эпителия глаза (РЕ-клетки), могут способствовать развитию и поддержанию иммуносупрессивного внутриглазного микроокружения посредством генерации Treg. В дополнение к глазным РЕ-клеткам глаз содержит резидентные популяции миелоидных клеток, таких как макрофаги и микроглиальные клетки. Однако большинство макрофагов ограничено роговицей и увеальным трактом, где они отвечают за поддержание гомеостаза путём удаления мусора и мёртвых клеток [2]. Микроглиальные клетки также играют важную роль в развитии/гомеостазе сетчатки и могут опосредовать местные нейровоспалительные реакции [4].

Treg, индуцируемые РЕ-клетками глаза, которые конститутивно экспрессируют фактор транскрипции Foxp3, необходимы для иммунной толерантности и гомеостаза, поскольку они подавляют чрезмерные иммунные реакции. Таким образом, Foxp3⁺-Tregs, а также Tregs, участвующие в AСAID, считаются ключевыми регуляторами иммунной привилегированности глаза [5].

СЕ-клетки являются частью внутренней поверхности передней камеры глаза и вступают в контакт с водянистой влагой. СЕ-клетки человека способны к местной иммунной толерантности в человеческом глазу, поскольку активированные Т-клетки, подвергшиеся воздействию СЕ-клеток, не приобретают эффекторную функцию Т-клеток [3]. Кроме того, известно, что СЕ-клетки конститутивно экспрессируют различные иммуномодулирующие молекулы, такие как Fas-лиганд, лиганд 1 программируемой смерти (PD-L1/CD274) и лиганд белка, связанный с рецептором фактора некроза опухоли, индуцированный глюкокортикоидами, что приводит к апоптозу эффекторных Т-клеток [2, 6].

Совокупность перечисленных механизмов позволяет органу зрения противостоять подавляющему большинству тканеспецифических антител, способных вызвать «на себя» иммунные реакции аутоагрессии и привести к потере зрения [7]. Нарушение баланса иммунологических факторов в глазу может привести к развитию различной патологии

этого органа, в том числе глаукомебактериальном кератите, катаракте [1].

Бактериальный кератит — острое воспаление роговой оболочки глаза бактериального генеза. Клинически проявляется острой болью в глазу, отёком, корнеальным синдромом, выраженной воспалительной инъекцией глазного яблока, наличием слизисто-гнойных выделений и др. Одним из основных механизмов борьбы макроорганизма с бактериальной инфекцией является активация кислородного взрыва. При бактериальном кератите данный механизм активируется и в итоге защищает орган зрения от распространения инфекции. При других офтальмопатологиях механизмы кислородного взрыва изучены недостаточно, особенно в аспекте предрасположенности (иммуногенетические маркеры). В настоящей работе будет акцентирована роль этих механизмов в патогенезе глаукомы. Являясь одним из наиболее распространённых заболеваний глаза, глаукома имеет высокую медико-социальную значимость, нередко приводит к слепоте и слабовидению и лидирует среди причин инвалидности вследствие офтальмопатологии. В России насчитывается около 1,3 млн больных глаукомой [9, 10].

В настоящее время выделяют основные теории развития ПОУГ:

- сосудистая дисфункция (дисрегуляция), приводящая к ишемии диска зрительного нерва [11];
- механическое поражение решетчатой мембраны склеры;
- компрессия аксонов зрительного нерва [12].

Важными факторами развития и прогрессирования глаукомы являются недостаточное кровоснабжение сетчатки и зрительного нерва вследствие нарушения глазного кровотока [4]. Многие авторы отмечают ухудшение показателей артериального кровотока, при этом роль венозного орбитального кровотока в развитии глаукомной оптической нейропатии отражена в единичных работах [11]. Изменения внутрисосудистой микроциркуляции развиваются на фоне нарушения функционирования системы гемостаза, в частности, патологии сосудисто-тромбоцитарного, или первичного, гемостаза [13]. Одной из причин нарушения регионарного кровообращения и микроциркуляции является дисфункция эндотелия, которая может приводить к вазоспазму, усиленному тромбообразованию и усиленной адгезии лейкоцитов к эндотелию [11]. Сосудистый эндотелий играет ключевую роль в регуляции тонуса сосудов сетчатки, зрительного нерва и хориоидеи [14–16].

Оксид азота (NO) играет ключевую роль в регуляции сосудистого гомеостаза и участвует в различных физиологических процессах. Известно, что NO выполняет защитную функцию при повреждении тканей или гибели клеток, вызванном

окислительным стрессом [17]. Прогрессирование глаукомы ассоциируется с изменением синтеза NO. В результате постоянного воздействия окислительного стресса, приводящего к недостаточности NO, запускается каскад патологических процессов [18]. Во многих исследованиях сообщается о связи между полиморфизмами гена *eNOS* и риском развития ПОУГ [11, 19, 20]. Среди нуклеотидных полиморфизмов, зарегистрированных в локусе *NOS3*, особенно значимыми являются *rs2070744*, вариант промотора *TC (T786C)* и *rs1799983*, вариант *GT (G894T)* в кодоне 298 в экзоне 7 (*Glu298Asp*). Недавний метаанализ также показал, что полиморфизмы *rs1799983* и *rs2070744* в *NOS3* играют значительную роль в модуляции риска ПОУГ [19]. Однако функциональная роль *rs1799983 (Glu298Asp)* является спорной. Существуют исследования *in vivo* и *in vitro*, которые предоставили противоположные доказательства того, что *Glu298Asp* не влияет на биологическую активность или функцию *eNOS*. Также сообщается об отрицательной ассоциации полиморфизмов в *TMTC2 (rs7961953)* [20], *PLXDC2 (rs7081455)* [21], *ATOH7 (rs7916697)* [22] и в локусе *1q43* [23].

Для оценки состояния эндотелия у пациентов с глаукомой проводилось исследование уровня циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников, показавшее его снижение у пациентов с ПОУГ, и предполагается его взаимосвязь с изменением глазной гемоперфузии [18]. Одним из наиболее информативных методов диагностики эндотелиальной дисфункции является исследование интегрального маркера эндотелиальной дисфункции — фактора Виллебранда. В работе P.L. Lip и соавт. выявлено повышение уровня фактора Виллебранда при глаукоме [24]. Однако, исходя из данных литературы, взаимосвязь изменений сосудистого эндотелия с риском развития глаукомной оптической нейропатии всё ещё недостаточно изучена [15].

Целью настоящего исследования стало изучение ассоциации полиморфных маркеров *T786C (rs2070744)*, *C774T (rs1549758)*, *Glu 298 Asp (rs1799983)* гена *eNOS*, а также их гаплотипов с риском развития ПОУГ у жителей Пермского края.

Материалы и методы

Для изучения роли полиморфных маркеров в гене *eNOS* были изучены данные 188 пациентов в возрасте 39–89 лет. В основную группу были включены 90 человек, у которых была диагностирована ПОУГ. При этом у 67 (74%) человек в качестве сопутствующей патологии диагностирована гипертоническая болезнь. В группу сравнения включены 98 человек, у которых была диагностирована возрастная катаракта различной степени зрелости, при этом гипертоническая болезнь в качестве сопутствующей патологии была у 54 (55%)

человек. Все пациенты — жители Пермского края, проходившие лечение в Центре микрохирургии глаза Пермской краевой клинической больницы по поводу катаракты или глаукомы. При поступлении на стационарное обследование и лечение всем больным разъяснялась суть проводимого исследования, ими подписывалось добровольное согласие на участие в нём. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ПМГМУ им. И.М. Сеченова (протокол № 17-19 от 11.12.2019).

В качестве материала для исследования использовалась периферическая кровь, из которой выделялась ДНК с помощью набора «К-СОРБ» («Синтол»), согласно протоколу, затем проводили полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени с использованием наборов для определения полиморфных маркеров *T786C*, *C774T*, *Glu298Asp* в гене *eNOS* («Синтол»).

Статистический анализ проводился с использованием статистического пакета для социальных наук SPSS («IBM»), а также «StatTech v.2.4.1» («Статтех»). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова–Смирнова (при числе исследуемых более 50). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывали с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q_1 – Q_3). Категориальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполняли с помощью критерия χ^2 Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10). При оценке результатов статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$. Результаты описаны с помощью отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала для ОШ (ДИ). ОШ, равное 1, показывает равенство сравниваемых шансов. Если ДИ ОШ включает единицу, то отсутствует статистически значимая связь между генотипом и наличием глаукомы у пациента. Для анализа совместного действия генотипов на наличие глаукомы использовали байесовский подход к построению логистической регрессии.

Построение прогностической модели вероятности определённого исхода выполняли при помощи метода логистической регрессии. Мерой определённости, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент R^2 Найджелкерка.

Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определённого исхода применяли метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определяли по наивысшему значению индекса Юдена.

Результаты

В основной группе средний возраст пациентов составил 71 ± 7 лет, по полу пациенты были распределены равномерно. В группе сравнения средний возраст составил 69 ± 9 лет, пациенты женского пола составили 58%, мужского — 42%. Статистически значимые различия по возрасту и по соотношению полов между основной группой и группой сравнения не выявлены ($p = 0,36$ и $p = 0,42$ соответственно).

При исследовании частоты встречаемости аллелей гена *eNOS* по полиморфному локусу *T786C* установлены процентные доли аллелей: в основной группе для аллеля *T* — 67,5%, для аллеля *C* — 32,5%; в группе сравнения для аллеля *T* — 43,31%, для аллеля *C* — 31,5%.

При анализе распределения аллелей по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* в группе пациентов с ПОУГ выявлено увеличение частоты встречаемости аллеля *T* в 1,558 раза, различия шансов не были статистически значимыми (95% ДИ 0,649–3,744; $p = 0,319$, критерий χ^2 Пирсона). По аллелю *C* гена *eNOS* отмечено снижение встречаемости в 2,329 раза в основной группе, различия шансов были статистически значимыми (ОШ = 0,429; 95% ДИ 0,234–0,786; $p = 0,006$, критерий χ^2 Пирсона). Распределение долей аллелей *T* и *C* гена *eNOS* для основной группы и для группы сравнения представлено в **табл. 1**.

При анализе распределения генотипов по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* выявлено, что доля гомозигот по аллелю *T* в основной группе была выше в 2,125 раза по сравнению с группой сравнения, различия шансов были статистически значимыми (95% ДИ 1,185–3,810; $p = 0,013$). Частота встречаемости гомозиготы по аллелю *C* и гетерозиготы *TC* в основной группе была ниже в 1,580 и в 1,763 раза по сравнению с группой контроля, различия шансов не были статистически значимыми (для гомозиготы по аллелю *C*: ОШ = 0,633; 95% ДИ 0,271–1,478; $p = 0,288$; для гетерозиготы *TC*: ОШ = 0,567; 95% ДИ 0,311–1,033; $p = 0,063$).

При исследовании распределения аллеля *T* по полиморфному локусу *C774T* гена *eNOS* в группе пациентов с глаукомой наблюдалось снижение встречаемости в 1,067 раза по сравнению с группой сравнения, различия шансов не были статистически значимыми (ОШ = 0,937; 95% ДИ 0,325–2,707).

При исследовании распределения аллеля *C* по полиморфному локусу *C774T* гена *eNOS* в группе пациентов с глаукомой наблюдалось снижение встречаемости в 1,186 раза относительно группы сравнения, различия шансов не были статистически значимыми (ОШ = 0,843; 95% ДИ 0,466–1,525).

При исследовании распределения генотипов по полиморфному локусу *C774T* гена *eNOS* среди пациентов с ПОУГ встречаемость по гомозиготному генотипу *TT* была выше в 1,329 раза относительно группы сравнения, различия шансов не были статистически значимыми (95% ДИ 0,733–2,409). Частота встречаемости генотипов *CC*, *TC* была ниже в 1,067 и 1,290 раза соответственно. При сопоставлении данных показателей различия шансов не были статистически значимыми: ОШ = 0,938; 95% ДИ 0,333–2,640 и ОШ = 0,775; 95% ДИ 0,421–1,426.

При исследовании распределения аллелей *Glu298Asp* частота встречаемости аллеля *T* была выше в 1,211 раза, аллеля *C* — ниже в 1,018 раза по сравнению с группой контроля, различия шансов не были статистически значимыми: 95% ДИ 0,519–2,828; 95% ДИ 0,554–1,745.

При исследовании распределения генотипов по полиморфному локусу *Glu298Asp* гена *eNOS* частота встречаемости генотипов *TT*, *TC* была выше в 1,011 и 1,055 раза соответственно. Частота встречаемости генотипа *CC* была ниже в 1,014 раза по сравнению с группой контроля, различия шансов не были статистически значимыми: 95% ДИ 0,569–1,797; 95% ДИ 0,586–1,898; 95% ДИ 0,412–2,363.

Для выявления влияния взаимодействия генотипов на наличие у пациента ПОУГ рассматривалось попарное влияние генотипов и влияние сразу 3 генотипов на наличие глаукомы. В **табл. 2** представлены p -значения при сравнении шансов для различных комбинаций генотипов относительно референсного генотипа.

В ходе анализа совместного влияния генотипов не было выявлено комбинации генотипов, которые оказывали бы статистически значимое влияние на наличие глаукомы у пациента.

С помощью метода бинарной логистической регрессии нами была построена прогностическая модель, позволяющая определить вероятность выявления ПОУГ в зависимости от различных факторов риска. Факторы для модели отбирали методом

Таблица 1. Распределение долей аллелей *T/C* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS*

Table 1. Distribution of proportions of *T/C* alleles for *T786C* polymorphic locus of *eNOS* gene

Аллель / Allele	Пациенты с ПОУГ / Patients with POAG		Группа сравнения / Control group		p
	n	%	n	%	
<i>T</i>	71	46,7	81	53,3	0,319
<i>C</i>	32	35,2	59	64,8	0,006

Таблица 2. Совместное влияние генотипов полиморфных маркеров на наличие ПОУГ у пациентов
Table 2. Joint effect of genotypes of polymorphic markers on presence of POAG in patients

Полиморфные маркеры Polymorphic markers	Генотипы полиморфных маркеров Genotypes of polymorphic markers			<i>p</i>	
<i>T786C</i> и <i>C774T</i> гена <i>eNOS</i> <i>T786C</i> and <i>C774T</i> of the <i>eNOS</i> gene	<i>T786C</i>	<i>C774T</i>		Референс-генотип Reference genotype	
	<i>CC</i>	<i>TT</i>			
	<i>TC</i>	<i>TC</i>			0,74
	<i>TT</i>	<i>TC</i>			0,69
	<i>TC</i>	<i>CC</i>			0,39
	<i>TT</i>	<i>CC</i>		0,22	
<i>T786C</i> и <i>Glu298Asp</i> гена <i>eNOS</i> <i>T786C</i> and <i>Glu298Asp</i> of the <i>eNOS</i> gene	<i>T786C</i>	<i>Glu298Asp</i>		Референс-генотип Reference genotype	
	<i>CC</i>	<i>TT</i>			
	<i>TC</i>	<i>TC</i>			0,74
	<i>TT</i>	<i>TC</i>			0,87
	<i>TC</i>	<i>CC</i>			0,75
	<i>TT</i>	<i>CC</i>		0,11	
<i>C774T</i> и <i>Glu298Asp</i> гена <i>eNOS</i> <i>T786C</i> and <i>Glu298Asp</i> of the <i>eNOS</i> gene	<i>C774T</i>	<i>Glu298Asp</i>	<i>Glu298Asp</i>	Референс-генотип Reference genotype	
	<i>CC</i>	<i>TT</i>	<i>TT</i>		
	<i>TC</i>	<i>TC</i>	<i>TC</i>		0,53
	<i>CC</i>	<i>TC</i>	<i>TC</i>		0,35
	<i>TC</i>	<i>CC</i>	<i>CC</i>		0,17
	<i>CC</i>	<i>CC</i>	<i>CC</i>	0,38	
Совместное влияние <i>T786C</i> , <i>C774T</i> , <i>Glu298Asp</i> гена <i>eNOS</i> Joint effect of <i>T786C</i> , <i>C774T</i> , <i>Glu298Asp</i> of the <i>eNOS</i> gene	<i>T786C</i>	<i>C774T</i>	<i>Glu298Asp</i>	Референс-генотип Reference genotype	
	<i>CC</i>	<i>CC</i>	<i>TT</i>		
	<i>TC</i>	<i>TC</i>	<i>TC</i>		0,88
	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>TC</i>		0,53
	<i>TC</i>	<i>CC</i>	<i>TC</i>		0,67
	<i>TT</i>	<i>CC</i>	<i>TC</i>		0,70
	<i>TC</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>		0,53
	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>		0,24
	<i>TC</i>	<i>CC</i>	<i>CC</i>		0,56
<i>TT</i>	<i>CC</i>	<i>CC</i>	0,83		

исключения по методу Вальда. Получена регрессионная функция:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%,$$

$$z = -0,312 + 0,201X_T - 0,513X_C + 0,680X_{ГБ},$$

где *P* — вероятность наличия глаукомы; *X_T* — *eNOS T786* (0 — отсутствие гомозиготы по аллелю *T* гена *eNOS*, 1 — наличие гомозиготы по аллелю *T* гена *eNOS*); *X_C* — *eNOS T786C* (0 — отсутствие аллеля *C*, 1 — наличие аллеля *C*), *X_{ГБ}* — ГБ (0 — отсутствие гипертонической болезни, 1 — наличие гипертонической болезни).

Полученная регрессионная модель является статистически значимой (*p* = 0,010). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет 7,9% наблюдаемой дисперсии глаукомы.

В соответствии с полученными значениями коэффициентов регрессии, наличие таких факторов, как гипертоническая болезнь, гомозигота по аллелю *T* гена *eNOS*, увеличивало вероятность выявления ПОУГ. Наличие аллеля *C T786C* гена *eNOS* снижало вероятность выявления глаукомы. Харак-

Таблица 3. Характеристики связи предикторов модели с вероятностью выявления глаукомы**Table 3.** Characteristics of the association between the model predictors and the probability of glaucoma detection

Предикторы Predictors	Нескорректированные показатели Unadjusted parameters			Скорректированные показатели Adjusted parameters
	ОШ / OR	95% ДИ 95% CI	p^*	ОШ / OR
Гомозигота по аллелю <i>T</i> <i>T786C</i> гена <i>eNOS</i> Homozygote for the allele <i>T</i> <i>T786C</i> of the <i>eNOS</i> gene	2,125	1,185–3,811	0,011	1,223
Аллель <i>C</i> <i>T786C</i> гена <i>eNOS</i> Allele <i>C</i> <i>T786C</i> of the <i>eNOS</i> gene	0,471	0,262–0,844	0,006	0,599
Гипертоническая болезнь Hypertension	2,061	1,137–3,736	0,017	1,975

Примечание. * $p < 0,05$ статистически значима.
Note. * $p < 0.05$ is statistically significant.

теристики отдельных факторов, вошедших в модель, представлены в **табл. 3**.

При оценке зависимости вероятности наличия глаукомы от значения логистической функции P с помощью ROC-анализа площадь под ROC-кривой составила $0,632 \pm 0,041$, 95% ДИ 0,552–0,711. Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,001$).

Пороговое значение логистической функции P в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,639. Наличие глаукомы прогнозировалось при значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 42,2 и 80,4% соответственно.

Обсуждение

Из данных литературы известно, что эндотелиальная дисфункция участвует в патогенезе нейродегенеративных изменений при ПОУГ [7]. Среди различных популяций проводилось исследование роли полиморфизма гена *eNOS* *rs2077044*, *rs1799983*. Так, среди китайской популяции не выявлено ассоциаций, в то время как европейской популяции у пациентов с мигренью генотип *TT* по полиморфному локусу *T786C* ассоциирован с риском развития глаукомы. В бразильской популяции генотип *rs2070744* ассоциирован с ПОУГ у пациентов женского пола. Среди жителей Саудовской Аравии *rs1799983* (и гаплотип *rs2070744*), ассоциированы с ПОУГ у мужчин [16].

В нашем исследовании установлено, что в группе пациентов с ПОУГ генотип *TT* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* ассоциирован с риском развития глаукомы, при этом аллель *C* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* выполняет протективную роль. При исследовании совместного влияния генотипов полиморфных маркеров гена *eNOS* на развитие ПОУГ у исследуемых больных статистически значимое влияние не выявлено.

При этом замечено, что гипертоническая болезнь усиливала негативное влияние повышенного внутриглазного давления на глаукомную оптическую нейропатию.

Проведённый А.А. Kondkar и соавт. анализ гаплотипов показал противоречивые результаты, но в большинстве из них *rs2070744* и *rs1799983* в группе пациентов с ПОУГ и в группе контроля не были связаны с риском развития глаукомы, как и в нашем исследовании [16].

Таким образом, генотип *TT* по полиморфному локусу *T786C* гена *eNOS* является прогностическим маркером, повышающим вероятность развития ПОУГ, при этом аллель *C* *T786C* гена *eNOS* выполняет протективную роль при том же заболевании среди жителей Пермского края.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Соломатина М.В., Лихванцева В.Г., Колесникова А.В. Иммунологические аспекты глаукомы. *Практическая медицина*. 2017; (3): 16–21.
2. Hiroshi K.S., Shintaro H.S., Sunao S.S. Immune privilege and eye-derived T-regulatory cells. *J. Immunol. Res.* 2018; 2018: 1679197. <https://doi.org/10.1155/2018/1679197>
3. Chaiwang N.S., Poyomtip T.S. The association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with primary open angle glaucoma susceptibility: a meta-analysis. *Biosci. Rep.* 2019; 39(4): BSR20190029. <https://doi.org/10.1042/BSR20190029>
4. Iglesias A.I., Springelkamp H.S., Ramdas W.D., Klaver C.C., Willemssen R., van Duijn C.M. Pathways, and animal models in primary open-angle glaucoma. *Eye (Lond.)*. 2015; 29(10): 1285–98. <https://doi.org/10.1038/eye.2015.160>
5. Sakaguchi S.S., Yamaguchi T.S., Nomura T.S., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008; 133(5): 775–87. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.05.009>
6. Hsu S.M., Mathew R., Taylor A.W., Stein-Streilein J. Ex-vivo tolerogenic F4/80⁺ antigen-presenting cells (APC) induce effluent CD8⁺ regulatory T cell-dependent suppression of experimental autoimmune uveitis. *Clin. Exp. Immunol.* 2014; 176(1): 37–48. <https://doi.org/10.1111/cei.12243>
7. Williams P.A., Marsh-Armstrong N.S., Howell G.R. Neuroinflammation in glaucoma: A new opportunity. *Exp. Eye Res.* 2017; 157: 20–7. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2017.02.014>

8. Егоров Е.А., Астахов Ю.С., Еричев В.П. *Национальное руководство по глаукоме: для практикующих врачей*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
9. Фурсова А.Ж., Гусаревич О.Г., Тарасова М.С., Васильева М.А., Чубарь Н.В., Литвинова Н.В. Возрастная макулярная дегенерация и глаукома. Эпидемиологические и клинико-генетические аспекты сочетанного течения. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2018; 38(5): 83–91. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20180514>
10. Wong W.L., Su X., Li X., Cheung C.M., Klein R., Cheng C.Y., et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health*. 2014; 2(2): e106–16. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(13\)70145-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(13)70145-1)
11. Silva T.M., Rocha A.V., Lacchini R.C., Marques C.R., Silva E.S., Tanus-Santos J.E., et al. Association of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene with the risk of primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Gene*. 2012; 502(2): 142–6. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.04.047>
12. Evangelho K., Mogilevskaya M., Losada-Barragan M., Vargas-Sanchez J.K. Pathophysiology of primary open-angle glaucoma from a neuroinflammatory and neurotoxicity perspective: a review of the literature. *Int. Ophthalmol.* 2019; 39(1): 259–71. <https://doi.org/10.1007/s10792-017-0795-9>
13. Эрб К. Глаукома и артериальная гипертония. *Российский офтальмологический журнал*. 2016; 9(1): 105–11. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2016-9-1-105-111>
14. Ozkan J.S., Majzoub M.E., Coroneo M.S., Thomas T., Willcox M. Comparative analysis of ocular surface tissue microbiome in human, mouse, rabbit, and guinea pig. *Exp. Eye Res.* 2021; 207: 108609. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.10860>
15. Weinreb R.N., Khaw P.T. Primary open-angle glaucoma. *Lancet*. 2004; 363(9422): 1711–20. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16257-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16257-0)
16. Kondkar A.A., Azad T.A., Sultan T., Osman E.A., Almobarak F.A., Al-Obeidan S.A. Association of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphisms with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. *PLoS One*. 2020; 15(1): e0227417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227417>
17. Wink D.A., Miranda K.M., Espey M.G., Luta R.M., Hewett S.J., Colton C., et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxid. Redox Signal.* 2001; 3(2): 203–13. <https://doi.org/10.1089/152308601300185179>
18. Ster A.M., Popp R.A., Petrisor F.M., Stan C., Pop V.I. The role of oxidative stress and vascular insufficiency in primary open angle glaucoma. *Clinul Med.* 2014; 87(3): 143–6. <https://doi.org/10.15386/cjmed-295>
19. Xiang Y., Dong Y., Li X., Tang X. Association of common variants in eNOS gene with primary open angle glaucoma: a meta-analysis. *J. Ophthalmol.* 2016; 2016: 1348347. <https://doi.org/10.1155/2016/1348347>
20. Kondkar A.A., Azad T.A., Almobarak F.A., Abu-Amero K.K., Al-Obeidan S.A. Polymorphism rs7961953 in TMTC2 gene is not associated with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. *Ophthalmic Genet.* 2019; 40(1): 74–6. <https://doi.org/10.1080/13816810.2019.1576210>
21. Kondkar A.A., Sultan T., Almobarak F.A., Kalantan H., Abu-Amero K.K., Al-Obeidan S.A. Plexin domain containing 2 (PLXDC2) gene polymorphism rs7081455 may not influence POAG risk in a Saudi cohort. *BMC Res. Notes*. 2018; 11(1): 733. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3848-x>
22. Kondkar A.A., Azad T.A., Almobarak F.A., Bahabri I.M., Kalantan H., Abu-Amero K.K., et al. Lack of association between variant rs7916697 in ATOH7 and primary open angle glaucoma in a Saudi cohort. *Genet. Res. Int.* 2018; 2018: 2148056. <https://doi.org/10.1155/2018/2148056>
23. Kondkar A.A., Azad T.A., Sultan T., Al-Mobarak F.A., Kalantan H., Al-Obeidan S.A. Polymorphisms rs693421 and rs2499601 at locus 1q43 and their haplotypes are not associated with primary open-angle glaucoma: a case-control study. *BMC Res. Notes*. 2019; 12(1): 453. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4491-x>
24. Lip P.L., Felmeden D.C., Blann A.D., et al. Plasma vascular endothelial growth factor, soluble VEGF receptor FLT-1, and von Willebrand factor in glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 2002; 86(11): 1299–302. <https://doi.org/10.1136/bjo.86.11.1299>

REFERENCES

1. Solomatina M.V., Likhvantseva V.G., Kolesnikova A.V. Immunological aspects of glaucoma. *Prakticheskaya meditsina*. 2017; (3): 16–21. (in Russian)
2. Hiroshi K.S., Shintaro H.S., Sunao S.S. Immune privilege and eye-derived T-regulatory cells. *J. Immunol. Res.* 2018; 2018: 1679197. <https://doi.org/10.1155/2018/1679197>
3. Chaiwang N.S., Poyomtip T.S. The association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with primary open angle glaucoma susceptibility: a meta-analysis. *Biosci. Rep.* 2019; 39(4): BSR20190029. <https://doi.org/10.1042/BSR20190029>
4. Iglesias A.I., Springelkamp H.S., Ramdas W.D., Klaver C.C., Willemsen R., van Duijn C.M. Pathways, and animal models in primary open-angle glaucoma. *Eye (Lond.)*. 2015; 29(10): 1285–98. <https://doi.org/10.1038/eye.2015.160>
5. Sakaguchi S.S., Yamaguchi T.S., Nomura T.S., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008; 133(5): 775–87. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.05.009>
6. Hsu S.M., Mathew R., Taylor A.W., Stein-Streilein J. Ex-vivo tolerogenic F4/80⁺ antigen-presenting cells (APC) induce efferent CD8⁺ regulatory T cell-dependent suppression of experimental autoimmune uveitis. *Clin. Exp. Immunol.* 2014; 176(1): 37–48. <https://doi.org/10.1111/cei.12243>
7. Williams P.A., Marsh-Armstrong N.S., Howell G.R. Neuroinflammation in glaucoma: A new opportunity. *Exp. Eye Res.* 2017; 157: 20–7. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2017.02.014>
8. Egorov E.A., Astakhov Yu.S., Eriчев V.P. *National Guide to Glaucoma: for Practicing Physicians [Natsional'noe rukovodstvo po glaukome: dlya praktikuyushchikh vrachey]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. (in Russian)
9. Fурсова А.Ж., Гусаревич О.Г., Тарасова М.С., Васильева М.А., Чубарь Н.В., Литвинова Н.В. Age-macular degeneration and glaucoma. Epidemiological and clinic-pathogenetic aspects. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 38(5): 83–91. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20180514> (in Russian)
10. Wong W.L., Su X., Li X., Cheung C.M., Klein R., Cheng C.Y., et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob. Health*. 2014; 2(2): e106–16. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(13\)70145-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(13)70145-1)
11. Silva T.M., Rocha A.V., Lacchini R.C., Marques C.R., Silva E.S., Tanus-Santos J.E., et al. Association of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene with the risk of primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Gene*. 2012; 502(2): 142–6. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.04.047>
12. Evangelho K., Mogilevskaya M., Losada-Barragan M., Vargas-Sanchez J.K. Pathophysiology of primary open-angle glaucoma from a neuroinflammatory and neurotoxicity perspective: a review of the literature. *Int. Ophthalmol.* 2019; 39(1): 259–71. <https://doi.org/10.1007/s10792-017-0795-9>
13. Erb K. Glaucoma and arterial hypertension. *Rossiyskiy oftalmologicheskiy zhurnal*. 2016; 9(1): 105–11. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2016-9-1-105-111> (in Russian)

14. Ozkan J.S., Majzoub M.E., Coroneo M.S., Thomas T., Willcox M. Comparative analysis of ocular surface tissue microbiome in human, mouse, rabbit, and guinea pig. *Exp. Eye Res.* 2021; 207: 108609. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.108609>
15. Weinreb R.N., Khaw P.T. Primary open-angle glaucoma. *Lancet.* 2004; 363(9422): 1711–20. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16257-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16257-0)
16. Kondkar A.A., Azad T.A., Sultan T., Osman E.A., Almobarak F.A., Al-Obeidan S.A. Association of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphisms with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. *PLoS One.* 2020; 15(1): e0227417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227417>
17. Wink D.A., Miranda K.M., Espey M.G., Iuta R.M., Hewett S.J., Colton C., et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxid. Redox Signal.* 2001; 3(2): 203–13. <https://doi.org/10.1089/152308601300185179>
18. Ster A.M., Popp R.A., Petrisor F.M., Stan C., Pop V.I. The role of oxidative stress and vascular insufficiency in primary open angle glaucoma. *Chujul Med.* 2014; 87(3): 143–6. <https://doi.org/10.15386/cjmed-295>
19. Xiang Y., Dong Y., Li X., Tang X. Association of common variants in eNOS gene with primary open angle glaucoma: a meta-analysis. *J. Ophthalmol.* 2016; 2016: 1348347. <https://doi.org/10.1155/2016/1348347>
20. Kondkar A.A., Azad T.A., Almobarak F.A., Abu-Amero K.K., Al-Obeidan S.A. Polymorphism rs7961953 in TMTC2 gene is not associated with primary open-angle glaucoma in a Saudi cohort. *Ophthalmic Genet.* 2019; 40(1): 74–6. <https://doi.org/10.1080/13816810.2019.1576210>
21. Kondkar A.A., Sultan T., Almobarak F.A., Kalantan H., Abu-Amero K.K., Al-Obeidan S.A. Plexin domain containing 2 (PLXDC2) gene polymorphism rs7081455 may not influence POAG risk in a Saudi cohort. *BMC Res. Notes.* 2018; 11(1): 733. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3848-x>
22. Kondkar A.A., Azad T.A., Almobarak F.A., Bahabri I.M., Kalantan H., Abu-Amero K.K., et al. Lack of association between variant rs7916697 in ATOH7 and primary open angle glaucoma in a Saudi cohort. *Genet. Res. Int.* 2018; 2018: 2148056. <https://doi.org/10.1155/2018/2148056>
23. Kondkar A.A., Azad T.A., Sultan T., Al-Mobarak F.A., Kalantan H., Al-Obeidan S.A. Polymorphisms rs693421 and rs2499601 at locus 1q43 and their haplotypes are not associated with primary open-angle glaucoma: a case-control study. *BMC Res. Notes.* 2019; 12(1): 453. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4491-x>
24. Lip P.L., Felmeden D.C., Blann A.D., et al. Plasma vascular endothelial growth factor, soluble VEGF receptor FLT-1, and von Willebrand factor in glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 2002; 86(11): 1299–302. <https://doi.org/10.1136/bjo.86.11.1299>

Информация об авторах

Свитич Оксана Анатольевна — д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия, директор НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Кинкулькина Алия Ряшидовна[✉] — аспирант каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия, м.н.с. НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, princes111@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4473-0577>

Авагян Асмик Самсоновна — студентка ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; лаборант НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5642-7092>

Гаврилова Татьяна Валерьевна — д.м.н., профессор, зав. каф. офтальмологии ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2071-9322>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 24.12.2021;
принята к публикации 14.02.2022;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Oksana A. Svitich — D. Sci. (Med.), Corresponding Member of the RAS, Professor, Department of microbiology, virology and immunology, F.F. Erisman Institute of Public Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; Director, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Aliya R. Kinkulkina[✉] — graduate student, Department of microbiology, virology and immunology, F.F. Erisman Institute of Public Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; junior researcher, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, princes111@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4473-0577>

Hasmik S. Avagyan — student, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; laboratory assistant, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5642-7092>

Tatiana V. Gavrilova — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of ophthalmology, Academician E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2071-9322>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 24.12.2022;
accepted for publication 14.02.2022;
published 28.02.2022



Анализ заболеваемости людей бруцеллёзом и молекулярно-биологическая характеристика изолятов *Brucella melitensis* на длительно неблагополучных по бруцеллёзу территориях юга европейской части России

Хачатурова А.А.✉, Пономаренко Д.Г., Ковалев Д.А., Германова А.Н.,
Лукашевич Д.Е., Русанова Д.В., Сердюк Н.С., Семенко О.В.,
Жиров А.М., Катунина Л.С., Куличенко А.Н.

Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия

Аннотация

Введение. Для совершенствования эпидемиологического надзора за бруцеллёзом в России необходимы подробный анализ заболеваемости и изучение особенностей штаммов бруцелл, циркулирующих на территориях страны, где отмечается стойкое эпизоотолого-эпидемиологическое неблагополучие по бруцеллёзу.

Цель исследования — изучение современных особенностей эпидемического процесса бруцеллёза и молекулярно-биологический анализ изолятов бруцелл на территории длительно неблагополучных по бруцеллёзу субъектов Южного (ЮФО) и Северо-Кавказского (СКФО) федеральных округов — Республики Дагестан (РД), Республики Калмыкия (РК) и Ставропольского края (СК).

Материалы и методы. Анализ заболеваемости бруцеллёзом в СКФО и ЮФО проводили на основе данных Управлений Роспотребнадзора за 2011–2020 гг. Изучено 56 культур *Brucella melitensis*, выделенных в 1999–2019 гг. от заболевших бруцеллёзом, постоянно проживающих на территориях РД, РК и СК.

Результаты. Ключевой фактор, способствующий возникновению случаев заболевания людей бруцеллёзом на территории юга европейской части России, — сохранение в регионе стойкого эпизоотического неблагополучия по бруцеллёзу мелкого и крупного рогатого скота. К ведущим сопутствующим факторам можно отнести: наличие в регионе «скрытых» эпизоотических очагов, неконтролируемых объектов производства пищевой продукции животноводства и её нелегальную реализацию населению, несанкционированное перемещение животных и животноводческих грузов, несвоевременную сдачу (передержку) больного скота. Результаты молекулярно-биологического анализа штаммов *B. melitensis* указывают на циркуляцию смешанной популяции бруцелл, в целом характерной для всего региона, без выраженной приуроченности изолятов к отдельным административным территориям. Вместе с тем всю изученную выборку штаммов можно условно распределить на две популяции (72 и 28% выборки), различающиеся профилями MLVA-16-генотипов по вариабельности локуса *Bruc* 19, что позволяет ассоциировать часть изученной популяции с территорией их выделения.

Обсуждение. Полученные данные позволяют научно обосновать возможность рассматривать длительно неблагополучные территории ЮФО и СКФО как единый (общий), стойкий и длительно активный антропоургический эпизоотический очаг с циркулирующей смешанной, но характерной для региона популяцией бруцелл.

Ключевые слова: бруцеллёз, *Brucella melitensis*, генотипирование, эпидемиология

Этическое утверждение. В исследовании использованы культуры *B. melitensis* от анонимизированных заболевших бруцеллёзом людей из коллекции Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора.

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

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

Для цитирования: Хачатурова А.А., Пономаренко Д.Г., Ковалев Д.А., Германова А.Н., Лукашевич Д.Е., Русанова Д.В., Сердюк Н.С., Семенко О.В., Жиров А.М., Катунина Л.С., Куличенко А.Н. Анализ заболеваемости людей бруцеллёзом и молекулярно-биологическая характеристика изолятов *Brucella melitensis* на длительно неблагополучных по бруцеллёзу территориях юга европейской части России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):63–74.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-185>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-185>

Analysis of cases of brucellosis in humans and molecular-biological characteristics of *Brucella melitensis* strains in regions of South European Russia with a high brucellosis incidence

Anna A. Khachaturova[✉], Dmitriy G. Ponomarenko, Dmitriy A. Kovalev, Anastasia N. Germanova, Daria E. Lukashovich, Diana V. Rusanova, Natalia S. Serdyuk, Oksana V. Semenko, Andrey M. Zhiron, Liudmila S. Katunina, Alexandr N. Kulichenko

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia

Abstract

Introduction. To improve the epidemiological surveillance of brucellosis in Russia, a detailed analysis of incidence and characteristics of *Brucella melitensis* strains circulating in the territories of the country where there is a persistent epizootic and epidemiological problem with brucellosis is required.

Purpose of the study. To study current trends in the brucellosis epidemic process and perform molecular analysis of *Brucella* isolates from the territories of Southern and North Caucasian Federal Districts with long lasting unfavorable situation with brucellosis — the Republics of Dagestan (RD), Kalmykia (RK) and Stavropol Krai (SK).

Materials and methods. The analysis of the brucellosis incidence in the North Caucasian Federal District and the Southern Federal District was carried out on the basis of data from the Rospotrebnadzor Departments for the period 2011–2020. Total 56 cultures of *Brucella melitensis*, isolated in 1999–2019 from patients with brucellosis that permanently resided in RD, RK and SK were studied.

Results. The key factor contributing to the epidemic manifestations of brucellosis in the south of the European part of Russia is the persistence of epizootic foci in cattle and small ruminants. The leading concomitant factors are as follows: the presence in the region of "hidden" epizootic foci, uncontrolled production of food products of animal husbandry and its illegal sale to customers, unauthorized movement of animals and livestock products, untimely delivery (concealment) of sick cattle for stamping out. Results of molecular analysis of *B. melitensis* strains indicate the circulation of a mixed population of brucella, which is generally characteristic of the entire region, without a pronounced confinement of isolates to separate administrative territories. At the same time, the entire studied sample of strains can be divided into two groups (72% and 28% of strains) based on MLVA-16 genotypes by the variability in the Bruce 19 locus, which makes it possible to associate a part of the studied strains with the territory of their isolation.

Discussion. The data obtained make it possible to scientifically substantiate the possibility of considering the affected territories of the Southern Federal District and the North Caucasian Federal District as a single common persistent active anthroponotic epizootic focus with circulation of a mixed, but typical for the region population of *Brucella* strains.

Keywords: brucellosis, *Brucella melitensis*, genotyping, epidemiology

Ethics approval. The study used cultures of *B. melitensis* from anonymized people with brucellosis from the collection of the Stavropol Research Anti-Plague Institute

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

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

For citation: Khachaturova A.A., Ponomarenko D.G., Kovalev D.A., Germanova A.N., Lukashovich D.E., Rusanova D.V., Serdyuk N.S., Semenko O.V., Zhiron A.M., Katunina L.S., Kulichenko A.N. Analysis of cases of brucellosis in humans and molecular-biological characteristics of *Brucella melitensis* strains in regions of South European Russia with a high brucellosis incidence. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):63–74.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-185>

Введение

Всемирная организация здравоохранения относит бруцеллёз к одному из самых опасных зоонозов в мире. Наибольшее распространение бруцеллёз получил в странах с интенсивным разведением мелкого (МРС) и крупного (КРС) рогатого скота и, как правило, низкой культурой ведения животноводства. На неблагоприятных территориях характер эпидемических проявлений бруцеллёза тесно связан с актив-

ностью эпизоотического бруцеллёзного процесса, а также региональными особенностями разведения животных, структуры хозяйств и социально-бытовых взаимоотношений сельского населения [1].

В России в последние 10 лет отмечается тенденция к улучшению эпидемиологической ситуации на фоне длительной напряжённой эпизоотической обстановки по бруцеллёзу МРС и КРС. Среднее многолетнее (2011–2020 гг.) количество случаев бруцеллёза

в год составляет 350. К наиболее неблагополучным по бруцеллёзу относят регионы юга европейской части — Северо-Кавказский (СКФО) и Южный (ЮФО) федеральные округа, где было выявлено 70–90% от заболеваемости бруцеллёзом в России [2–5].

Административные территории СКФО и ЮФО характеризуются разнообразием климато-географических и экономических условий. При этом данный регион страны имеет специфические черты, общие для неблагополучных по бруцеллёзу субъектов: интенсивное разведение сельскохозяйственных животных, содержание в личном подворье большого количества часто не зарегистрированного в установленном порядке МРС и КРС, традиционные национально-бытовые особенности выращивания домашних животных и кустарного производства мясо-молочных продуктов, наличие сложившейся десятилетиями системы неофициальных бартерно-торговых взаимоотношений среди производителей и потребителей сельхозпродукции, активная сезонная трудовая миграция населения [6–9].

Вместе с тем длительное эпизоотолого-эпидемиологическое неблагополучие по бруцеллёзу на европейском юге России во многом обусловлено дальнейшей тенденцией к разукрупнению хозяйств общественного сектора и изменению социально-экономической формации в сельском хозяйстве региона, что влечёт за собой увеличение количества индивидуальных, фермерских и акционерных хозяйств разного направления деятельности. В этих условиях ключевое значение приобретает установление закономерностей и современных особенностей эпидемиологического проявления этой инфекции на отдельных административных территориях России, а также выявление факторов, способствующих сохранению и распространению бруцеллёзной инфекции.

К наиболее эпидемиологически опасному виду бруцелл относится *Brucella melitensis*. Широкое распространения *B. melitensis* в популяции МРС, потенциально высокий риск миграции бруцелл козье-овечьего вида на КРС и другие виды животных обеспечивают стойкое эпизоотическое неблагополучие и частые эпидемические проявления инфекции в регионе. С целью совершенствования мониторинга инфекции на территории России необходим анализ особенностей (профиля) фенотипических и молекулярно-генетических характеристик штаммов бруцелл, циркулирующих на территориях страны, где отмечается стойкое эпизоотолого-эпидемиологическое неблагополучие по бруцеллёзу.

Цель исследования: изучение современных особенностей эпидемического процесса бруцеллёза и молекулярно-биологический анализ изолятов бруцелл на территории длительно неблагополучных по бруцеллёзу субъектов ЮФО и СКФО — Республики Дагестан (РД), Республики Калмыкия (РК) и Ставропольского края (СК).

Материалы и методы

Анализ эпидемической ситуации в СКФО и ЮФО проведён на основе изучения данных Управлений Роспотребнадзора в соответствующих субъектах РФ по результатам эпидемиологических исследований случаев заболевания людей бруцеллёзом за 2011–2020 гг.

Для выявления фенотипических и молекулярно-генетических особенностей штаммов бруцелл, циркулирующих на неблагополучных территориях юга европейской части России, было изучено 56 культур *B. melitensis* из коллекции Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора, которые, согласно паспортным данным культур, были выделены в 1999–2019 гг. от анонимизированных заболевших бруцеллёзом людей, постоянно проживающих на территориях РД, РК и СК.

Для определения видовой и биоваровой принадлежности культур бруцелл проводили расширенную дифференциацию: оценку потребности возбудителя бруцеллёза в повышенном содержании CO₂ в атмосфере культивирования, интенсивности продукции сероводорода, устойчивости к микробиологическим красителям (тионин, основной фуксин), агглютиногенности монорецепторными диагностическими сыворотками (*anti-abortionis*, *anti-melitensis*) и лизогенности бруцеллёзными бактериофагами Т6, Wb, F1 и Bk2.

Для изучения сахаролитических свойств штаммов бруцелл использовали среды Гисса, для определения каталазной, уреазной и оксидазной активности — коммерческие наборы «Микро-каталаза-НИЦФ» и «Микро-уреаза-НИЦФ» (Россия), «Micro-la-test» («Erba Lachema») соответственно. Оценка чувствительности изолятов бруцелл к антибактериальным препаратам (АБП) осуществляли диско-диффузионным методом с использованием агара Мюллера–Хинтона по МУК 4.2.2495-09, МУК 3.1.7.3402-16^{1,2} [10].

Проведение генетического типирования *B. melitensis* с использованием MLVA по схеме, предложенной P. Le Fleche и соавт. [11], заключалось в учёте размеров 16 VNTR-локусов *Brucella* spp. [12, 13]. Для сравнительного анализа в исследование были включены 14 штаммов *B. melitensis*, генотипы которых представлены в международной базе данных MLVA-генотипов MLVA bank for Microbes Genotyping [14]. Биоинформатическая обработка данных, построение и визуализация дендрограмм проведены с

¹ Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сальмонеллез, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам. Методические указания. МУК 4.2.2495-09. М., 2010.

² Эпидемиологический надзор и лабораторная диагностика бруцеллеза. Официальное издание МУК 3.1.7.3402-16. М., 2017.



Рис. 1. Регистрация случаев бруцеллёза среди людей на административных территориях СКФО в 2011–2020 гг.

Fig. 1. Registration of cases of brucellosis in humans in the administrative territories of SCFO in 2011–2020.

использованием плагина MLVA-plugin пакета программ «BioNumerics® software» и программного онлайн-продукта «PHILOVIZ 2.0 software»³.

Анализ данных осуществляли с использованием языка программирования R [15] (пакет анализа «tidyverse») [16]. Анализ значимости отличий наблюдаемых частот антибактериальной устойчивости проводили с использованием точного теста Фишера. Критическим уровнем статистической значимости различий установлено значение $p < 0,05$. Анализ данных MLVA-типирования методом главных компонент (principal component analysis — PCA) проводили в среде языка R с использованием функции `prcomp` [17–19].

Все работы с биоматериалом и культурами бруцелл проводили в соответствии с требованиями действующих нормативных документов^{4,5}.

³ URL: <http://www.phylloviz.net>

⁴ Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.3118-13. М., 2014.

⁵ Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности. МУ 1.3.2569-09. М., 2010.

Результаты и обсуждение

Эпидемиологическая обстановка по бруцеллёзу на территориях юга европейской части России (преимущественно административные территории СКФО и ЮФО) в последнее десятилетие оставалась достаточно напряжённой, вместе с тем отмечался неустойчивый тренд к уменьшению числа случаев заболевания бруцеллёзом. В 2011–2020 гг. в этих федеральных округах было зарегистрировано 79,7% случаев (2794 случая) от общего количества впервые выявленного бруцеллёза в России. Наибольшее количество случаев было установлено на территории СКФО (2291 случай; 65,3%), где бруцеллёз среди людей в основном регистрировали в РД (1483 случая; 5,03 на 100 тыс. населения) и СК (730 случаев; 2,63 на 100 тыс. населения; **рис. 1**).

По данным эпидемиологического анализа случаев заболевания людей бруцеллёзом в РД было установлено, что среди заболевших преобладают лица в возрасте 18–60 лет (80–85%), мужского пола (70–72%). Доля жителей сельской местности среди больных составила 88–90%, в том числе детей до 17 лет — 14 случаев. В РД в 2011–2020 гг. ежегодно регистрировался самый высокий в России уровень заболеваемости детей бруцеллёзом (в среднем 15 случаев в год, 1,73 на 100 тыс. населения), что

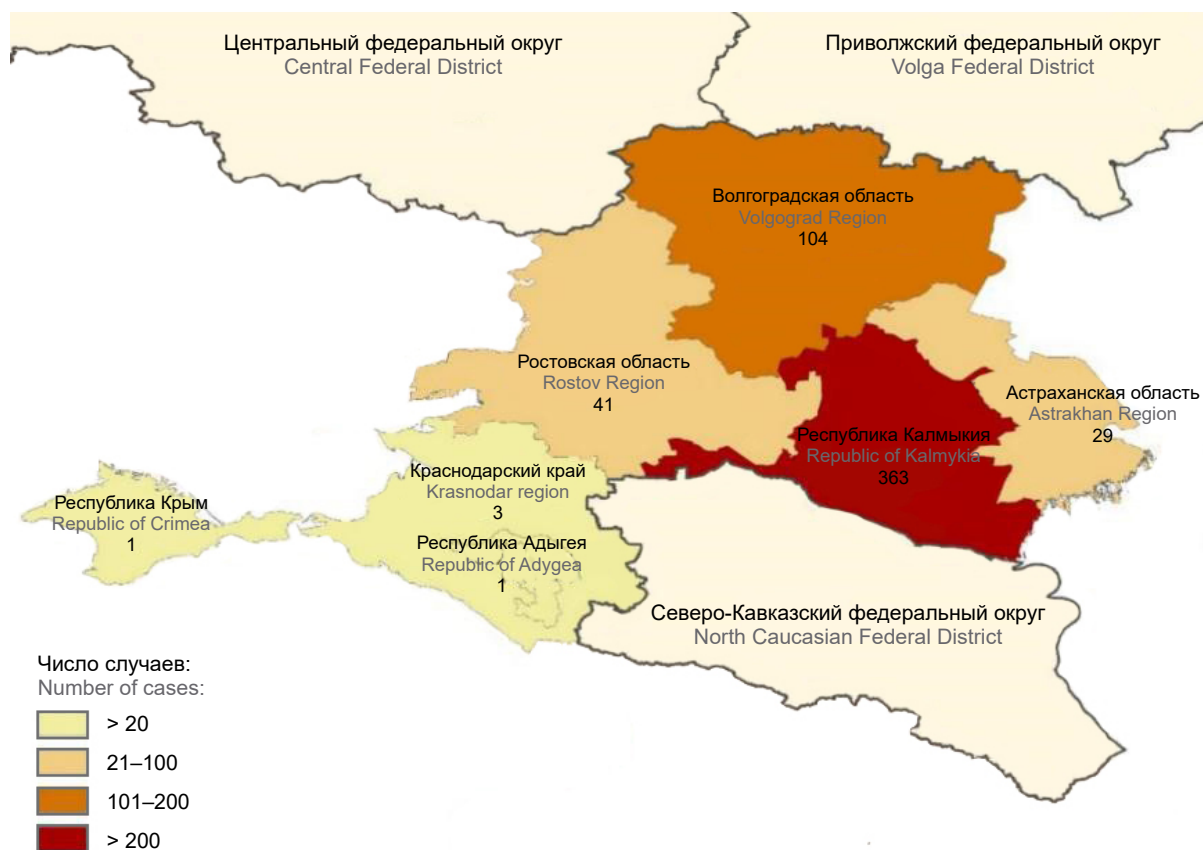


Рис. 2. Регистрация случаев бруцеллёза среди людей на административных территориях ЮФО в 2011–2020 гг.
Fig. 2. Registration of cases of brucellosis in humans in the administrative territories of the Southern Federal District in 2011–2020.

связано с этническими традициями постоянного привлечения детей к обслуживанию домашних животных. В структуре лиц, заболевших бруцеллёзом, 6,4–10% составил профессионально-угрожаемый контингент (ветеринарные работники, зоотехники, пастухи, скотники и др.), около 60% — лица, имеющие личное подворье. Из числа установленных источников инфекции КРС составил 58–62%, МРС — 41–43%. Контактный механизм передачи инфекции (бытовой, прямой путь инфицирования) был установлен в более чем 60% случаев, почти треть составил фекально-оральный (пищевой путь). Бруцеллёз в РД ежегодно регистрировался на территориях более 40 административных субъектов; наиболее часто — у населения, проживающего на территориях Буйнакского, Акушинского, Дахадаевского, Хунзанского, Левашинского районов и Махачкалы.

В СК случаи заболевания людей бруцеллёзом выявлялись в основном в январе, марте и в период с мая по декабрь. Максимальное количество случаев было зарегистрировано в период с июля по август (35–40%). Наиболее часто бруцеллёз подтверждался среди населения, проживающего в сельской местности (82–85%). По данным исследователей [20], бруцеллёз в структуре профессиональных

заболеваний в СК составляет 70–75%. Доля профессионально-угрожаемого контингента (ветеринарные работники, зоотехники, пастухи, скотники, животноводы, работники молочно-товарных ферм и др.) составила в среднем до 12%, индивидуальных владельцев животных — 12–15%. Из установленных в результате эпидрасследований факторов передачи бруцеллёзной инфекции 75–80% составили пищевые продукты животного происхождения (молоко, кисломолочные продукты, мясо, мясные продукты), 22–26% — сырье от животных. В качестве ведущего механизма передачи инфекции был установлен фекально-оральный (пищевой путь). Бруцеллёз в СК наиболее часто регистрировался у населения, проживающего на территориях Левкумского и Нефтекумского районов, имеющих общую границу с энзоотическими по бруцеллёзу территориями РД и РК.

На территории субъектов ЮФО в 2011–2020 гг. было установлено 503 случая бруцеллёза (14,3% от общего количества заболевших бруцеллёзом в России; 0,34 на 100 тыс. населения). Наиболее стойкое эпидемиологическое неблагополучие по бруцеллёзу в округе отмечается на территории РК (рис. 2).

РК относится к субъектам РФ с наиболее высокими показателями заболеваемости бруцеллёзом на 100 тыс. населения, который в среднем за последние

10 лет составил 11,53. Всего в 2011–2020 гг. было установлено 363 случая (в среднем в год 36 случаев) заболевания людей бруцеллёзом, что составило более 64% от всех выявленных случаев бруцеллёза в округе. Бруцеллёз в РК преимущественно регистрировали в январе и с апреля по декабрь, с наибольшим количеством — 55–60% с июня по сентябрь. В отличие от РД и СК, в РК основным источником бруцеллёзной инфекции для людей был МРС (более 70–76% от всех установленных источников). В качестве ведущего механизма передачи инфекции (более 40% из установленных случаев) был подтверждён контактный (бытовой и/или прямой путь инфицирования), преобладающие факторы передачи инфекции — естественные выделения больных бруцеллёзом животных. Бруцеллёз в РК наиболее часто регистрировался у лиц, проживающих на территориях Лаганского, Малодербетовского и Целинного районов. Население этих административных территорий РК в наибольшей степени вовлечено в сферу деятельности по производству животноводческой продукции, особенно мяса (баранина и козлятина, говядина), а также шерсти овец.

Анализ штаммов *B. melitensis*, выделенных на территории юга европейской части России в 1999–2019 гг., показал, что изоляты бруцелл обладали слабой биохимической активностью, типичной для данного вида. Культуры возбудителя бруцеллёза ферментировали D-глюкозу и не сбраживали маннозу, рамнозу и мальтозу. Вместе с тем бруцеллы проявляли оксидазную, уреазную и каталазную активность (см. Приложение⁶).

При определении биоваровой принадлежности бруцелл было установлено, что подавляющее большинство штаммов (70% от изученных культур), изолированных на территории РД, относились к III биовару, 20% — ко II. Среди культур бруцелл, выделенных в СК, также преобладали штаммы III биовара (50%), количество изолятов I и II биоваров составили 30 и 20% соответственно. В РК чаще выделялись культуры I (40%) и II (40%) биоваров.

В результате исследований была определена чувствительность/устойчивость штаммов бруцелл в отношении 13 АБП (рис. 3). Из числа исследованных штаммов 13% показали резистентность к 2 и более антибиотикам. Статистически значимой связи устойчивости бруцелл к отдельному препарату с местом выделения культуры обнаружено не было ($p > 0,05$, точный тест Фишера). Кроме того, статистически значимой связи MLVA-генотипа с профилем антибиотикоустойчивости установить не удалось.

Изучаемые штаммы бруцелл, выделенные из клинического материала в разные годы на юге

России, имели MLVA-генотипы, отличающиеся от штаммов, составляющих Средиземноморский западный и Американский кластеры. После сравнения с базой данных MLVA-генотипов⁷ установлено, что изучаемые штаммы группируются со штаммами, формирующими Средиземноморский восточный кластер, в котором наибольшее родство отмечалось с MLVA-8-генотипами 45 и 42, что согласуется с полученными ранее данными о циркуляции изолятов этих генотипов на территории России и в государствах (Казахстан, Монголия, Китай), граничащих с юго-восточной частью России (Сибирь и Дальневосточные регионы) [13, 21]. Наиболее близкое генетическое родство всех штаммов *B. melitensis*, выделенных на юге европейской части России, выявлено с международным референтным штаммом *B. melitensis* 63/9 (1963 г., Индия) и штаммами, имеющими также азиатское происхождение, выделенными во время вспышки 2013 г. в Казахстане, и изолятами разных годов из Китая за счёт идентичных локусов Bruce 6, Bruce 8, Bruce 11, Bruce 12, Bruce 42, Bruce 45 и Bruce 55.

Панели MLVA-15 и MLVA-16, которые включают переменные локусы Bruce 4, Bruce 7, Bruce 9, Bruce 16 и Bruce 30, позволяют дифференцировать штаммы, выделенные из клинического материала на территориях юга европейской части России, и сопоставлять (ассоциировать) генотипы с местом выделения гемокультур. За счёт изменчивости локуса Bruce 19, входящего в панель MLVA-16, удалось дифференцировать штаммы, выделенные на наиболее неблагоприятных и граничащих между собой территориях субъектов ЮФО и СКФО. Так, ранее сгруппированные клинические изоляты из РК и СК сформировали одну группу с числом tandemных повторов 39 (72% выборки) в локусе Bruce 19, а среди штаммов, выделенных в РД, можно выделить популяцию с числом tandemных повторов 41 (28% выборки) в локусе Bruce 19. Штаммы *B. melitensis*, изолированные в разных административных районах РК в 1999–2019 гг., имеют одинаковые MLVA-16-генотипы с частью штаммов из СК, выделенных в 2018–2019 гг. Однако не все штаммы, изолированные в СК (2014, 2018, 2019 гг.), имели вышеуказанные аллели и группировались с идентичными MLVA-16-генотипами штаммов из РК и РД (2012, 2014, 2019 гг.).

В результате кластерного анализа на основании MLVA-генотипирования установлено деление всех штаммов на 3 кластера (рис. 4). Кластеры I и II образованы штаммами, выделенными на территории СК, РК и РД в 1999–2019 гг. В кластер III вошли штаммы из группы сравнения.

В кластере I можно выделить 4 группы, первая образована 3 штаммами из РД, 1 — из РК и 3 — СК.

⁶ Приложение см. на официальном сайте журнала.
URL: <https://microbiol.elpub.ru>

⁷ URL: <https://microbesgenotyping.i2bc.paris-saclay.fr/databases/view/40>

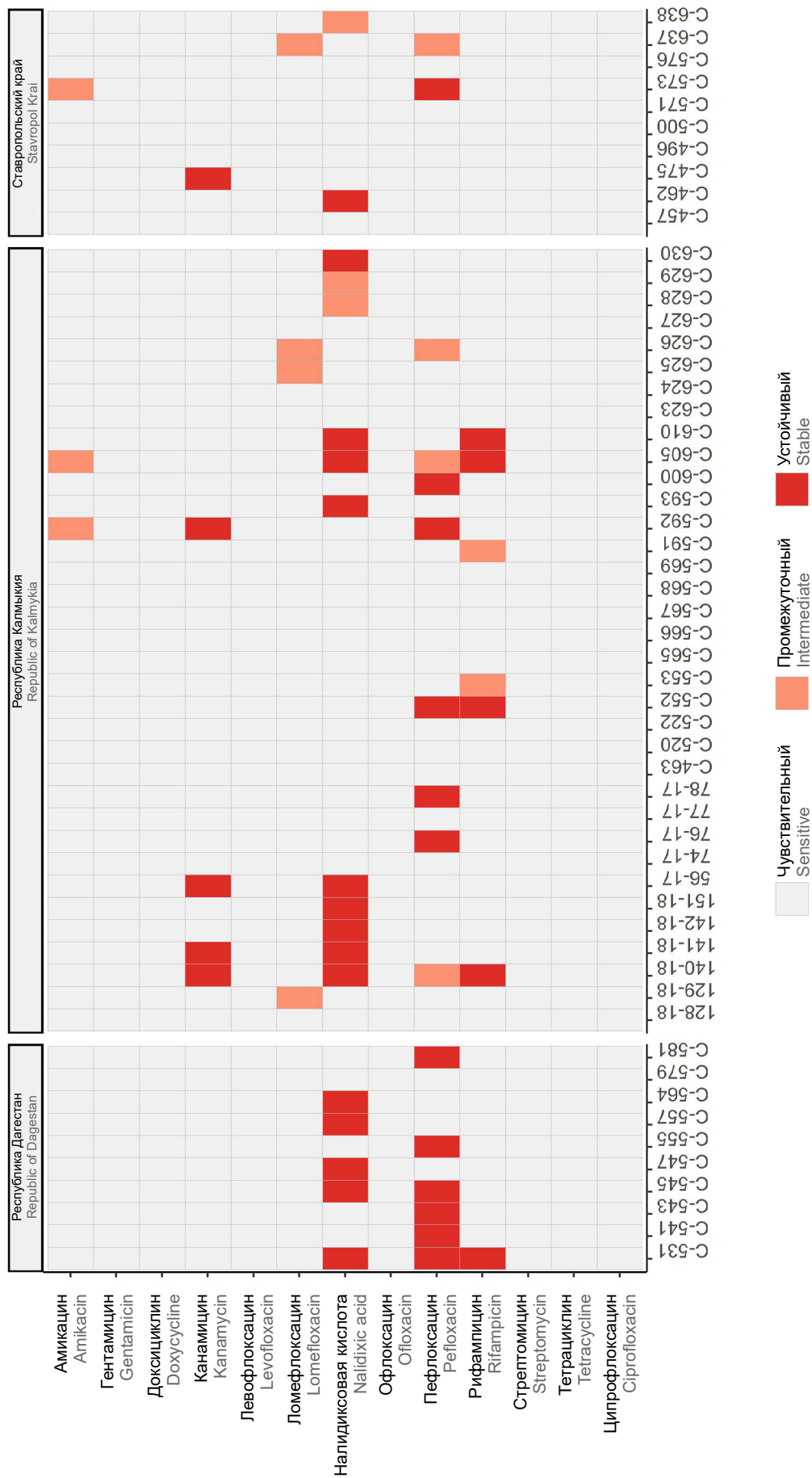


Рис. 3. Результаты оценки чувствительности к АБП штаммов *B. melitensis*.
Fig. 3. Results of the assessment of sensitivity of *B. melitensis* strains to antibacterial preparations.

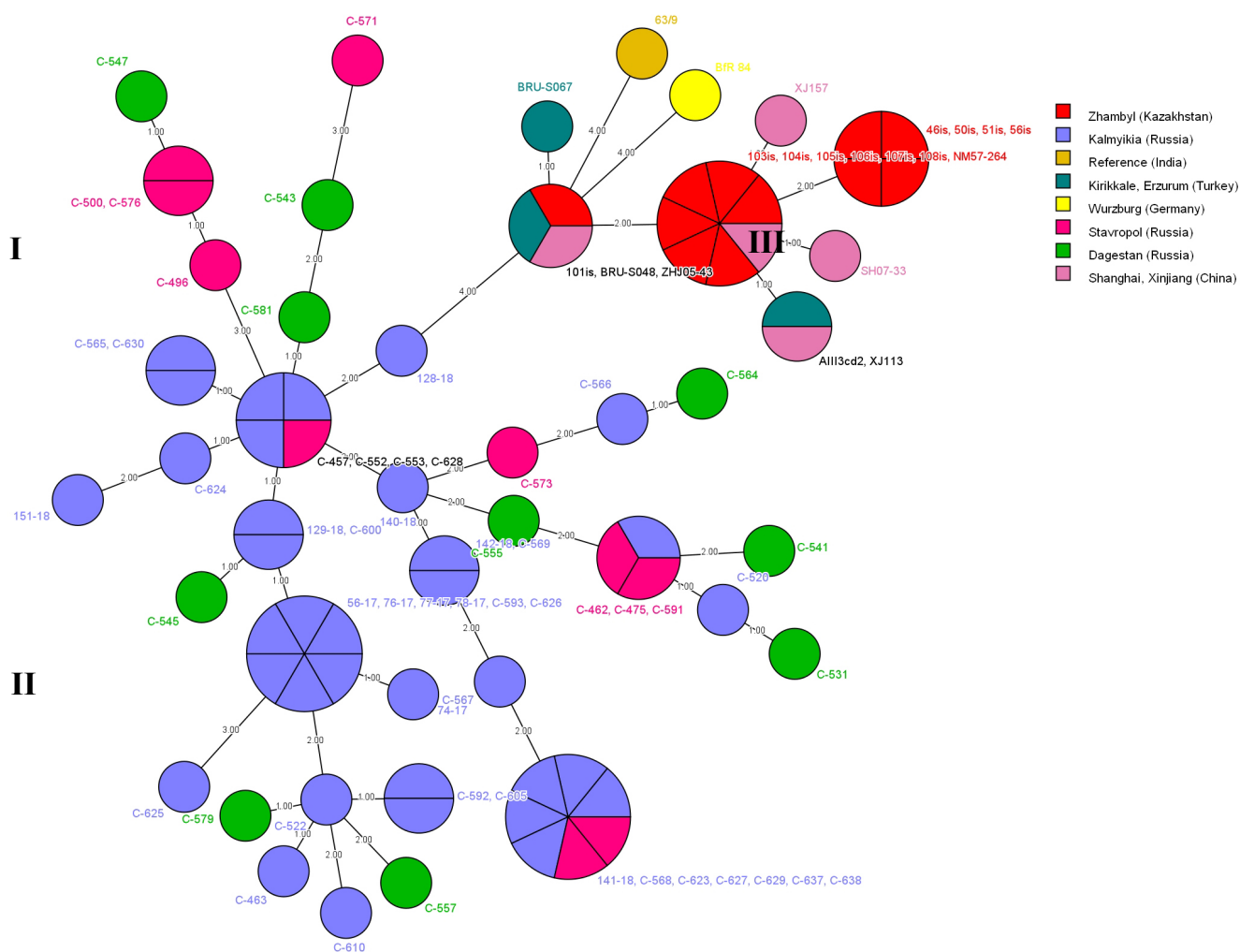


Рис. 4. Дендрограмма *B. melitensis*, построенная на основании данных генотипирования методом MLVA-16, ассоциированная с территорией выделения штаммов.

Fig. 4. Dendrogram for *B. melitensis*, built on the based on the data of genotyping by the MLVA-16 method associated with the territory of strain isolation.

Сопоставление MLVA-генотипов указанных штаммов показывает, что они различаются только по числу повторов 4 переменных локусов (Bruce 19, Bruce 07, Bruce 09, Bruce 16), аллельные варианты других VNTR были идентичны (1, 5, 3, 12, 2, 2, 3, 2, 5, 9, 5, 6).

Вторую группу образовали 3 штамма из СК (2000–2002, 2015 гг.) и 1 из Дагестана (2015 г.), MLVA-профиль которых был идентичным, за исключением локусов Bruce 19 и Bruce 18.

В третью группу вошли 3 штамма, выделенных в 2014 г. на трёх исследуемых территориях и различающихся по локусам Bruce 19, Bruce 04, Bruce 16.

Четвёртую группу составили 10 изолятов из РК (2014, 2018, 2019 гг.) и 2 из СК (2019 г.). Дистальный конец ветви образован 7 штаммами с одинаковым MLVA-профилем (1, 5, 3, 12, 2, 3, 3, 2, 5, 39, 8, 7, 5, 3, 6, 6), выделенными в 2019 г., что говорит об общем происхождении изолятов.

Кластер II состоит из двух групп: одну образовали 3 штамма из РД и 1 штамм из СК, MLVA-генотипы которых отличаются вариантами локусов Bruce 07, Bruce 16, Bruce 30. Вторая, более обширная группа, состоит из изолятов, выделенных на территории 3 регионов в 1999–2019 гг., имеющих различия от 1 до 4 тандемных повторов в локусах (Bruce 19, Bruce 21, Bruce 04, Bruce 07, Bruce 09, Bruce 16, Bruce 30), аллельный вариант остальных локусов был идентичен (1, 5, 3, 12, 2, 2, 3, 2, 5).

Отдельный кластерный комплекс III образован исключительно штаммами группы сравнения, выделенными от людей в Турции, и культурами, выделенными от овец в Казахстане, Турции и Китае, в 2002, 2005, 2008 и 2013 гг. Наиболее генетически близкими к изученным штаммам оказались изоляты из Турции, что связано с географическим положением территории, через которую пролегали торговые пути из Восточной Азии в Европу. Территория

современной Турции часто была промежуточным этапом на пути следования торговых караванов, в том числе с животными и животноводческой продукцией. Вместе с тем известно, что в VI–VII вв. через Северный Прикаспий по территории Северного Кавказа к Черноморскому (Понтийскому) побережью были проложены новые торговые маршруты Великого Шёлкового пути из Китая и Средней Азии. Использование метода главных компонент, основное преимущество которого заключается в уменьшении количества характеристик объекта наблюдения при минимальной потере информации, в качестве метода классификации штаммов по MLVA-генотипу позволило добиться снижения размерности данных путём создания новых переменных (главных компонент) из линейной комбинации исходных характеристик. При визуализации первых двух главных компонент на плоскости штаммы из РД, РК и СК образуют РСА-кластер, обособленный от штаммов внешней группы. Высокая степень пересечения границ РСА-кластеров из юга России, по всей видимости, связана с отсутствием специфичных для региона вариантов VNTR-локусов и значительным сходством MLVA-генотипов (рис. 5).

Заключение

Длительное эпидемиологическое неблагополучие по бруцеллёзу территорий юга европейской части России в полной мере отражает имеющийся масштаб стойкой эпизоотической напряжённости южных регионов по бруцеллёзу. К особенностям эпидемиологической ситуации по бруцеллёзу на территориях РД, РК и СК за последние 10 лет можно отнести:

- отсутствие стойкой тенденции к снижению заболеваемости бруцеллёзом относительно средних многолетних показателей. В последние 10 лет в СКФО и ЮФО регистрируется более 80% случаев от общего количества заболеваемости бруцеллёзом людей и животных в России;
- 44% (7 случаев) от общего количества групповых вспышек в России было зарегистрировано на территориях ЮФО и СКФО. Все случаи группового заболевания людей бруцеллёзом в регионе были выявлены до установления эпизоотического неблагополучия хозяйств, т.е. в «скрытых» (невьявленных) эпизоотических очагах;
- бруцеллёз у людей на неблагополучных территориях юга европейской части России регистрировался в течение всего календарного года. Можно отметить удлинение сезонности заболевания до 8–10 мес (январь–октябрь), иногда без выраженного пика заболеваемости;
- преобладание (75–80%) в структуре контингентов, вовлечённых в эпизоотический про-

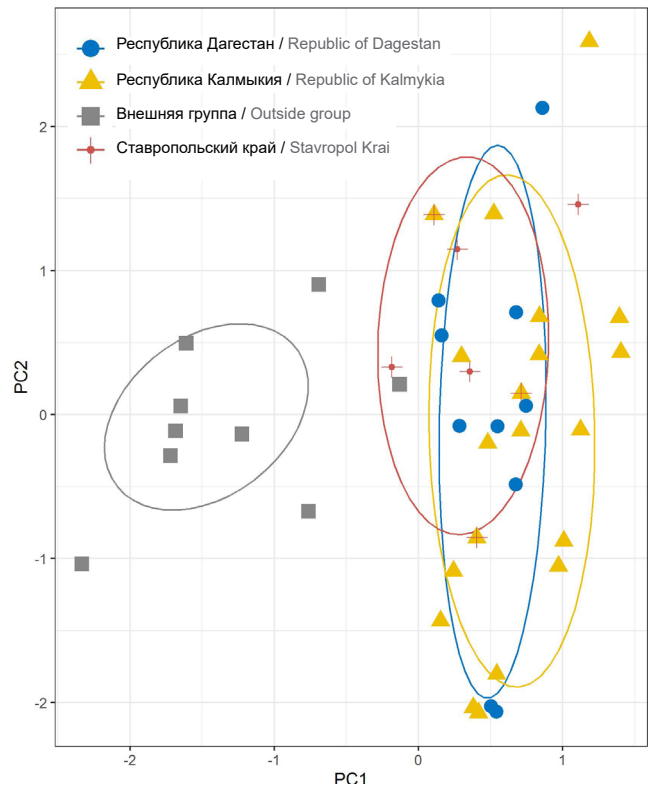


Рис. 5. PCA-анализ классификации штаммов по MLVA-генотипу.

Fig. 5. PCA analysis of the strain classification based on MLVA-genotype.

цесс бруцеллёза, лиц не из контингентов риска (чаще — индивидуальные владельцы животных). Доля лиц из группы профессионального риска (зоотехники и ветеринарные специалисты, чабаны, животноводы, работники молочнотоварных ферм и др.) составила в среднем 7–12%;

- в СК и РД источником бруцеллёзной инфекции для человека чаще был КРС, в РК — МРС. Вместе с тем в РК в последние 10 лет прослеживается тенденция к увеличению роли КРС как источника бруцеллёзной инфекции для людей;
- в РК по сравнению с РД, СК и другими субъектами СКФО у заболевших бруцеллёзом людей наиболее часто регистрировали острые (манифестные) формы течения болезни, что, вероятно, связано с ведущей ролью в качестве источника бруцеллёзной инфекции МРС, носителя наиболее патогенного для человека козье-овечьего вида бруцелл — *B. melitensis*;
- в большинстве (более 80%) случаев заболевания людей бруцеллёзом источником инфекции были животные индивидуального сектора;
- в РД и РК в качестве ведущего был установлен контактный механизм передачи бруцеллёзной инфекции (основные факторы передачи возбудителя бруцеллёза — естественные выделения

больных животных). В СК преобладал фекально-оральный механизм передачи (пищевой путь) инфекции (факторы передачи — молоко, кисломолочные продукты, мясо, мясные продукты);

- в РД и РК бруцеллёз среди людей регистрировали на территории муниципальных образований, в которых отмечается большая доля вовлечённости населения в животноводческую сферу деятельности. В СК бруцеллёз чаще выявлялся среди людей, проживающих в районах, граничащих с РД и РК.

Ключевой фактор, способствующий ежегодному возникновению случаев заболевания людей бруцеллёзом на территории юга европейской части России, — сохранение в регионе стойкого эпизоотического неблагополучия по бруцеллёзу среди эпидемиологически значимых видов КРС и МРС. К сопутствующим факторам риска в субъектах европейского юга России можно отнести: наличие на территории «скрытых» сельскохозяйственных эпизоотических очагов (скрытых бруцеллоносителей среди животных), несоблюдение ветеринарных требований при приобретении, реализации и содержании животных (низкая культура ведения животноводства), наличие несанкционированных внутри- и межсубъектных перемещений животных и животноводческих грузов, несвоевременную сдачу (передержку) больных животных на убой, наличие на территории неконтролируемых в установленном порядке объектов кустарного производства пищевой продукции животноводства (особенно — молочных продуктов) и её несанкционированной («неорганизованной») реализации населению, низкий уровень информированности (грамотности) населения о факторах риска по бруцеллёзу, мерах личной профилактики бруцеллёза и борьбы с инфекцией.

Результаты молекулярно-биологического анализа штаммов *B. melitensis*, выделенных от заболевших бруцеллёзом на неблагополучных территориях юга европейской части России, указывают на наличие циркуляции смешанной популяции штаммов бруцелл, в целом характерной для всего субрегиона, но без выраженной приуроченности изолятов к отдельным административным субъектам ЮФО и СКФО. Кроме того, можно разделить выборку на две большие группы клинических изолятов данной территории с различающимися профилями MLVA-16-генотипов по вариабельности локуса *Vncse 19* с числом tandemных повторов 39 (72% выборки) и 41 (28% выборки), позволяющие ассоциировать часть представленной выборки гемокультур с территорией их выделения (РК, РД, СК). Вместе с тем среди рассмотренных длительно неблагополучных по бруцеллёзу административных территорий юга европейской части России можно выделить РК, где в последние 10 лет регистрируется самый вы-

сокий в стране показатель заболеваемости людей бруцеллёзом — 11,54 на 100 тыс. населения (РФ — 0,24, РД — 5,03, СК — 2,63). На территории РК отмечается циркуляция штаммов *B. melitensis* преимущественно одного MLVA-16-генотипа, что может указывать на наличие стойких (не ликвидированных) эпизоотических очагов на этой территории, что также подтверждается выделением от жителей РК на протяжении длительного времени фенотипически и генотипически «однотипных» гемокультур.

Полученные данные позволяют научно обосновать возможность рассматривать длительно неблагополучные территории ЮФО и СКФО как единый (общий), стойкий и длительно активный антропоургический эпизоотический очаг с циркуляцией смешанной, но характерной для региона популяции бруцелл. Для совершенствования эпизоотолого-эпидемиологического мониторинга возбудителей бруцеллёза в России, а также с учётом высокого риска «выноса» (распространения) возбудителя бруцеллёза с эпизоотически неблагополучных территорий ЮФО и СКФО в другие регионы страны необходима паспортизация профиля штаммов возбудителей бруцеллёза региона юга европейской части России.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wang X.H., Jiang H. Global prevalence of human brucellosis. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2020; 41(10): 1717–22. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112338-20191022-00751> (in Chinese)
2. Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Скударева О.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л. и др. Анализ эпидемической и эпизоотической ситуации по бруцеллёзу в мире в 2019 г. и прогноз на 2020 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (2): 48–56. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-2-48-56>
3. Пономаренко Д.Г., Ежлова Е.Б., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Пакскина Н.Д., Бердникова Т.В. и др. Анализ эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по бруцеллёзу в Российской Федерации в 2018 г. и прогноз на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; (2): 14–21. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-2-14-21>
4. Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Бердникова Т.В., Хачатурова А.А., Манин Е.А., Куличенко А.Н. Обзор эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по бруцеллёзу в Российской Федерации в 2017 г. и прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; (2): 23–9. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-2-23-29>
5. Лямкин Г.И., Пономаренко Д.Г., Худолеев А.А., Русанова Д.В., Вилинская С.В., Куличенко А.Н. Обзор эпидемиологической ситуации по бруцеллёзу в Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; (2): 11–3. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-2-11-13>
6. Намруева Л.В., Иванов Н.П. Тренды, проблемы и перспективы развития животноводства на юге России. *Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 3: Экономика. Экология*. 2018; (1): 55–63. <https://doi.org/10.15688/jvolsu3.2018.1.6>
7. Лямкин Г.И. *Бруцеллёз в регионе Северного Кавказа (эпидемиология, природная очаговость, лабораторная диагностика)*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Саратов; 1995.

8. Русанова Д.В. *Эпидемиологические особенности бруцеллёза в Ставропольском крае*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Ставрополь; 2011.
9. Манин Е.А. *Научное обоснование применения ГИС-технологий в эпидемиологическом надзоре за бруцеллёзом (на примере Ставропольского края)*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Ставрополь; 2012.
10. Русанова Д.В., Лямкин Г.И., Головнёва С.И., Вилинская С.В., Манин Е.А. К вопросу изучения антибиотикорезистентности штаммов возбудителя бруцеллеза, выделенных на территории Ставропольского края и Республики Дагестан. В кн.: *Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. Ставрополь; 2012: 63–4.
11. Le Flèche P., Jacques I., Grayon M., Al Dahouk S., Bouchon P., Denoëud F., et al. Evaluation and selection of tandem repeat loci for a Brucella MLVA typing assay. *BMC Microbiol.* 2006; 6: 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-6-9>
12. Ma J.Y., Wang H., Zhang X.F., Xu L.Q., Hu G.Y., Jiang H., et al. MLVA and MLST typing of Brucella from Qinghai, China. *Infect. Dis. Poverty.* 2016; 5: 26. <https://doi.org/10.1186/s40249-016-0123-z>
13. Кулаков Ю.К., Ковалев Д.А., Мисетова Е.Н., Головнева С.И., Ляпустина Л.В., Желудков М.М. Использование multiple locus variable tandem repeats analysis в систематике возбудителя бруцеллеза. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2012; 30(2): 30–4.
14. Электронная база данных MLVA bank for Microbes Genotyping. Available at: <https://microbesgenotyping.i2bc.paris-saclay.fr/databases>
15. R Foundation for Statistical Computing. R: A language and environment for statistical computing. Vienna; 2020. Available at: <https://www.R-project.org/>
16. Wickham H., Averick M., Bryan J., Chang W., McGowan L., François R., et al. Welcome to the Tidyverse. *J. Open Source Softw.* 2019; 4(43): 1686. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>
17. Becker R.A., Chambers J.M., Wilks A.R. *The New S Language*. Pacific Grove: Wadsworth & Brooks; 1988.
18. Mardia K.V., Kent J.T., Bibby J.M. *Multivariate Analysis*. London: Academic Press; 1979.
19. Venables W.N., Ripley B.D. *Modern Applied Statistics with S*. New York: Springer-Verlag; 2002.
20. Санникова И.В., Махиня О.В., Малеев В.В., Дейнека Д.А., Голубь О.Г., Ковальчук И.В. и др. Бруцеллёз в Ставропольском крае: результаты 15-летнего наблюдения эпидемиологических и клинических особенностей. *Терапевтический архив.* 2015; 87(11): 11–7. <https://doi.org/10.17116/terarkh2015871111-17>
21. Садикалиева С.О., Строчков В.М., Орынбаев М.Б., Шораява К.А., Еспембетов Б.А., Сансызбай А.Р. и др. Молекулярно-генетическое типирование бактерии рода BRUCELLA, циркулирующих в Республике Казахстан. *Вестник Башкирского университета.* 2017; 22(2): 403–8.
22. epizootiological-epidemiological situation on brucellosis in the Russian Federation in 2018 and forecast for 2019. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2019; (2): 14–21. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-2-14-21> (in Russian)
23. Ponomarenko D.G., Rusanova D.V., Berdnikova T.V., Khachaturova A.A., Manin E.A., Kulichenko A.N. Overview of epizootological and epidemiological situation on brucellosis in the Russian Federation in 2017 and prognosis for 2018. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2018; (2): 23–9. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-2-23-29> (in Russian)
24. Lyamkin G.I., Ponomarenko D.G., Khudoleev A.A., Rusanova D.V., Vilinskaya S.V., Kulichenko A.N. Review of the epidemiological situation for brucellosis in the Russian Federation in 2015 and forecast for 2016. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2016; (2): 11–3. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-2-11-13> (in Russian)
25. Namrueva L.V., Ivanov N.P. Trends, problems and prospects for the development of animal husbandry in the south of Russia. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 3: Ekonomika. Ekologiya.* 2018; (1): 55–63. <https://doi.org/10.15688/jvolsu3.2018.1.6> (in Russian)
26. Lyamkin G.I. *Brucellosis in the North Caucasus region (epidemiology, natural focus, laboratory diagnostics)*: Diss. Saratov; 1995. (in Russian)
27. Rusanova D.V. *Epidemiological features of brucellosis in the Stavropol Territory*: Diss. Stavropol'; 2011. (in Russian)
28. Manin E.A. *Scientific substantiation of the use of GIS technologies in epidemiological surveillance of brucellosis (on the example of the Stavropol Territory)*: Diss. Stavropol'; 2012. (in Russian)
29. Rusanova D.V., Lyamkin G.I., Golovneva S.I., Vilinskaya S.V., Manin E.A. On the issue of studying antibiotic resistance of strains of the causative agent of brucellosis isolated in the territories of the Stavropol Territory and the Republic of Dagestan. In: *Actual Problems of Diseases Common to Humans and Animals: Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation [Aktual'nye problemy bolezney, obshchikh dlya cheloveka i zhivotnykh: Materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem.]*. Stavropol'; 2012: 63–4. (in Russian)
30. Le Flèche P., Jacques I., Grayon M., Al Dahouk S., Bouchon P., Denoëud F., et al. Evaluation and selection of tandem repeat loci for a Brucella MLVA typing assay. *BMC Microbiol.* 2006; 6: 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-6-9>
31. Ma J.Y., Wang H., Zhang X.F., Xu L.Q., Hu G.Y., Jiang H., et al. MLVA and MLST typing of Brucella from Qinghai, China. *Infect. Dis. Poverty.* 2016; 5: 26. <https://doi.org/10.1186/s40249-016-0123-z>
32. Kulakov Yu.K., Kovalev D.A., Missetova E.N., Golovneva S.I., Lyapustina L.V., Zheludkov M.M. Use of multiple locus variable number tandem repeats analysis in systematics of the causative agent of brucellosis. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2012; 27(2): 79–84. <https://doi.org/10.3103/S089141681202005X>
33. Electronic database MLVA bank for Microbes Genotyping. Available at: <https://microbesgenotyping.i2bc.paris-saclay.fr/databases>
34. R Foundation for Statistical Computing. R: A language and environment for statistical computing. Vienna; 2020. Available at: <https://www.R-project.org/>
35. Wickham H., Averick M., Bryan J., Chang W., McGowan L., François R., et al. Welcome to the Tidyverse. *J. Open Source Softw.* 2019; 4(43): 1686. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>
36. Becker R.A., Chambers J.M., Wilks A.R. *The New S Language*. Pacific Grove: Wadsworth & Brooks; 1988.
37. Mardia K.V., Kent J.T., Bibby J.M. *Multivariate Analysis*. London: Academic Press; 1979.
38. Venables W.N., Ripley B.D. *Modern Applied Statistics with S*. New York: Springer-Verlag; 2002.

20. Sannikova I.V., Makhinya O.V., Maleev V.V., Deyneka D.A., Golub' O.G., Koval'chuk I.V., et al. Brucellosis in the Stavropol Territory: results of 15-year follow-up of epidemiological and clinical features. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2015; 87(11): 11–7. <https://doi.org/10.17116/terarkh2015871111-17> (in Russian)
21. Sadikalieva S.O., Stochkov V.M., Orynbaev M.B., Shoracva K.A., Espembetov B.A., Sansyzybay A.R., et al. Molecular-genetic typing of bacteria of genus *Brucella* circulated in the Republic of Kazakhstan. *Vestnik Bashkirskogo universiteta*. 2017; 22(2): 403–8. (in Russian)

Информация об авторах

Хачатурова Анна Андреевна[✉] — аспирант, биолог лаб. бруцеллеза Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, bruc26@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7459-7204>

Пономаренко Дмитрий Григорьевич — к.б.н., зав. лаб. бруцеллеза Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0422-6755>

Ковалев Дмитрий Анатольевич — к.х.н., зав. лаб. биохимии Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>

Германова Анастасия Николаевна — м.н.с. лаб. бруцеллеза Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5036-9517>

Лукашевич Дарья Евгеньевна — лаборант-исследователь лаб. бруцеллеза Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7405-101X>

Русанова Диана Владимировна — к.м.н., зав. научно-производственной лаб. препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2229-6570>

Сердюк Наталия Сергеевна — к.б.н., биолог лаб. «Коллекция патогенных микроорганизмов» Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5350-0111>

Семенко Оксана Валерьевна — м.н.с. лаб. эпидемиологии Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6018-3262>

Жилов Андрей Михайлович — н.с. лаб. биохимии Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7698-7361>

Катунина Людмила Семеновна — к.б.н., врач-бактериолог лаб. питательных сред Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7051-059X>

Куличенко Александр Николаевич — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, директор Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 28.07.2021;
принята к публикации 15.11.2021;
опубликована 15.12.2021

Information about the authors

Anna A. Khachaturova[✉] — graduate student, biologist, Brucellosis laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, bruc26@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7459-7204>

Dmitriy G. Ponomarenko — Cand. Sci. (Biol.), Head, Brucellosis laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0422-6755>

Dmitriy A. Kovalev — Cand. Sci. (Chem.), Head, Laboratory of biochemistry, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>

Anastasiya N. Germanova — junior researcher, Brucellosis laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5036-9517>

Daria E. Lukashovich — research assistant, Brucellosis laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7405-101X>

Diana V. Rusanova — Cand. Sci. (Med.), Head, Research and production laboratory of drugs for the diagnosis of especially dangerous and other infections, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2229-6570>

Natalia S. Serdiuk — Cand. Sci. (Biol.), biologist, Laboratory "Collection of pathogenic microorganisms", Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5350-0111>

Oksana V. Semenko — junior researcher, Laboratory of epidemiology, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6018-3262>

Andrey M. Zhiron — researcher, Laboratory of biochemistry, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7698-7361>

Liudmila S. Katunina — Cand. Sci. (Biol.), doctor-bacteriologist, Laboratory of nutrient media, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7051-059X>

Alexandr N. Kulichenko — D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding member of RAS, Director, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 28.07.2021;
accepted for publication 15.11.2021;
published 15.12.2021



Оценка экономического ущерба, ассоциированного с заболеванием ветряной оспой детского населения Алтайского края

Передельская Е.А.[✉], Сафьянова Т.В.

Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

Аннотация

Введение. В современных условиях экономический анализ ущерба, наносимого ветряной оспой (ВО), приобретает особое значение, т.к. способствует принятию управленческих решений для достижения максимального медицинского профилактического эффекта.

Цель исследования — оценить экономический ущерб, наносимый заболеванием ВО детей 0–17 лет в Алтайском крае, для принятия управленческих решений.

Материалы и методы. Для оценки затрат использовались данные по заболеваемости ВО, полученные в наших предыдущих исследованиях, тарифы Территориального фонда обязательного медицинского страхования для Алтайского края, данные о валовом региональном продукте, а также данные анкетирования родителей детей, больных ВО. Исследование проводилось на базе 2 поликлиник Барнаула (для амбулаторных пациентов) и детского инфекционного отделения Городской клинической больницы (для госпитализированных больных) за 1 календарный год (июль 2019 г. – июнь 2020 г.).

Результаты. Рассчитанный оценочный ущерб, наносимый ВО, за год в Алтайском крае составил 31 527 294,87 руб., из которого 42% — это затраты из собственных средств граждан (родителей детей, больных ВО). Затраты личных средств родителей на лечение одного амбулаторного случая ВО в среднем составили 3125,4 руб., а стационарного — 2705,4 руб.

Заключение. Расходы правительства и граждан Алтайского края на лечение ВО очень велики, и заболевание не поддается контролю существующими профилактическими мерами, о чём свидетельствуют стабильно высокие показатели заболеваемости. В связи с этим точная оценка экономического ущерба необходима для правильного принятия управленческих решений по внедрению новых профилактических мер, в том числе вакцинации в Алтайском крае.

Ключевые слова: ветряная оспа, эпидемиология, экономический ущерб, Алтайский край

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке компании «GlaxoSmithKline Biologicals» (eTrack: 212391).

Конфликт интересов. Компании «GlaxoSmithKline Biologicals» была предоставлена возможность ознакомиться с предварительной версией этой публикации на предмет фактической точности, но авторы несут полную ответственность за окончательное содержание и интерпретацию. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Передельская Е.А., Сафьянова Т.В. Оценка экономического ущерба, ассоциированного с заболеванием ветряной оспой детского населения Алтайского края. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2022;99(1):75–80.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-206>

Assessment of the economic damage caused by varicella disease in children aged 0–17 years in the Altai Territory

Ekaterina A. Peredelskaya[✉], Tatyana V. Safyanova

Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Abstract

Introduction. In modern conditions, the economic analysis of the damage caused by varicella (chickenpox) is of particular importance, as it contributes to the adoption of management decisions aimed to achieve the maximum medical preventive effect.

Purpose: to assess the economic damage caused by the varicella disease in children aged 0–17 years in the Altai Territory.

Materials and methods. To estimate the costs, we used data on the incidence of varicella obtained in our previous studies, tariffs of the Territorial Compulsory Health Insurance Fund for the Altai Territory, data on the gross regional product, as well as data from a survey of parents of patients with varicella. The study was conducted based on two polyclinics in Barnaul (for outpatient patients) and the children's infectious diseases department of the Barnaul City Clinical Hospital (for hospitalized patients) for one calendar year (July 2019 – June 2020).

Results. The estimated damage caused by varicella per one year in the Altai Territory amounted to 31,527,294.87 rubles, of which 42% are expenses from the own funds of citizens (parents of children with varicella). The cost of parents' personal funds for the treatment of one outpatient case of varicella averaged 3125.4 rubles, and of inpatient case — 2705.4 rubles.

Conclusions. The expenses of the government and citizens of the Altai Territory for the treatment of varicella are very large and the disease cannot be controlled by existing preventive measures, as evidenced by consistently high incidence rates. In this regard, an accurate assessment of economic damage is necessary for proper management decisions on the introduction of new preventive measures, including vaccination.

Keywords: chicken pox, varicella, epidemiology, economic damage, Altai Territory

Funding source. The study was supported by «GlaxoSmithKline Biologicals» (eTrack: 212391).

Conflict of interest. «GlaxoSmithKline Biologicals» has been given the opportunity to review the preliminary version of this publication for factual accuracy, but the authors are solely responsible for the final content and interpretation. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Peredelskaya E.A., Safyanova T.V. Assessment of the economic damage caused by chickenpox disease in children aged 0–17 years in the Altai Territory. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):75–80.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-206>

Введение

Особое значение ветряной оспы (ВО) обусловлено не только высокими показателями заболеваемости (до 559,1 случая на 100 тыс. населения) [1], но и увеличением числа осложнённых клинических форм и «повзрослением» инфекции [2, 3]. ВО в России сохраняет стабильно 2–3-е место в структуре инфекционных болезней и 3-е — по величине наносимого экономического ущерба (ЭУ) [1, 3]. В современных условиях комплексный экономический анализ ущерба, наносимого данной инфекцией, приобретает особо важное значение, т.к. точная оценка ЭУ необходима для правильного принятия управленческих решений по внедрению новых профилактических мер, в том числе вакцинации [4–6].

На сегодняшний день в России существуют лишь ограниченные данные об ЭУ от ВО с позиции общества в целом [4, 7]. Для Алтайского края такие данные в открытой опубликованной литературе не обнаружены.

Целью нашего исследования являлась оценка ЭУ, наносимого заболеванием ВО детей 0–17 лет в Алтайском крае, с позиции государства и общества в целом для принятия управленческих решений.

Материалы и методы

Для оценки ЭУ рассчитывались прямые медицинские (на лечение и медицинское обслуживание) и непрямые затраты (потери от временной нетрудоспособности родителя, ухаживающего за больным ребенком; транспортные расходы и др.) на одного пациента и общий ущерб для Алтайского края за 2019 г.

Показатели заболеваемости ВО для расчёта ущерба для системы здравоохранения получены из статистических отчетных форм № 2 Федерально-государственного статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» в Алтайском крае за 2019 г. Поскольку данные формы включают все случаи заболевания (как амбулаторные, так и госпитализированные), для более точной оценки ЭУ нами был также рассчитан процент госпитализированных больных с диагнозом ВО. Для расчёта использовались данные, полученные при исследовании заболеваемости ВО, проведённом в двух крупных поликлиниках и детском инфекционном отделении г. Барнаула за один календарный год (июль 2019 г. – июнь 2020 г.), согласно которым процент госпитализаций при заболевании ВО среди детей 0–17 лет составил 2,56%.

Для расчёта прямых затрат для государства и системы здравоохранения использовались нормы финансирования на единицу объёма медицинской помощи, утверждённые в Программе государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи на 2019 г.¹ Непрямой ущерб для государства определяли по величине неполученного валового регионального продукта в 2019 г.²

¹ Постановление Правительства Российской Федерации от 10.12.2018 № 1506 «О Программе государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2019 год и на плановый период 2020 и 2021 годов».

² Федеральная служба государственной статистики. Статистические данные о стоимости валового регионального продукта (ВРП) на душу населения за 2019. URL: <https://rosstat.gov.ru/accounts> (дата обращения: 14.04.2021).

Общий ЭУ для государства и системы здравоохранения от ВО рассчитан как сумма прямого и непрямого ущерба.

Показатели для расчета ущерба с позиции общества в целом были получены нами при проведении исследования, включавшего анкетирование родителей детей, больных ВО, за период июль 2019 г. – июнь 2020 г. Предварительно разработанные анкеты выдавали родителям при первом посещении врача первичной медико-санитарной помощи, заполненные анкеты собирали при окончательном плановом посещении детских городских поликлиник г. Барнаула № 3 и № 9, обслуживающих 12 712 и 22 000 пациентов в возрасте 0–17 лет соответственно. Анкеты также заполняли родители детей, госпитализированных в детское инфекционное отделение Городской клинической больницы № 11 г. Барнаула.

При помощи анкетирования для каждого случая ВО были оценены следующие параметры:

- продолжительность нахождения на больничном листе лиц, осуществляющих уход за больным;
- домашние расходы (уход за больными, в том числе родственниками), расходы из собственных финансовых средств, связанные с лечением заболевания;
- доплата за лекарственные средства (если применимо);
- безрецептурные лекарственные средства (противозудные кремы и др.);
- расходы на няню, проезд родственника для ухода за больным;
- транспортные расходы, связанные с заболеванием (такси, бензин, общественный транспорт);
- иные расходы, связанные с заболеванием ВО.

Общий ущерб с позиции общества в целом был рассчитан как сумма прямого и непрямого ущерба для государства и прямых и не прямых затрат родителей детей, больных ВО.

Результаты

Показатели заболеваемости ВО в Алтайском крае

За период исследования абсолютное число заболевших ВО детей 0–17 лет в Алтайском крае составило 4155 человек [8]. Доля госпитализированных больных ВО для этой возрастной группы в среднем составляет 2,56% от общего числа детей, заболевших ВО (106 человек).

Оценка прямых и не прямых затрат родителей детей 0–17 лет, больных ВО

За период исследования было проведено анкетирование 293 родителей детей 0–17 лет, больных ВО (91% случаев из числа зарегистрированных в данных учреждениях за исследуемый период): 266 амбулаторных больных и 27 госпитализированных.

Всего затраты личных средств родителей на лечение детей, больных ВО, в двух поликлиниках и инфекционном отделении составили 729 941 руб.

Средние затраты личных средств родителей на лечение ребёнка, больного ВО, а также оценки родителей недополученных ими доходов вследствие необходимости ухода за ребёнком представлены в **таблице**.

Затраты личных средств родителей на лечение одного амбулаторного случая ВО в среднем составили 3125,40 руб., а стационарного — 2705,40 руб., что в масштабе Алтайского края в 2019 г. потенциально равнялось 12 701 625,60 и 246 191,40 руб. соответственно. Таким образом, общие (прямые и

Средние прямые и не прямые затраты родителей ребёнка, больного ВО (на 1 случай заболевания)

Average direct and indirect costs of parents of a child with varicella disease (per 1 case of the disease)

Показатель Parameter	Амбулаторный случай, руб. Outpatient cases, rubles	Стационарный случай, руб. Inpatient cases, rubles
Сумма недополученных доходов Amount of lost income	1648,20	1521,70
Затраты на привлечение родственников Costs of the recruitment of relatives	603,20	0,00
Оплата няни Paying for a babysitter	22,60	0,00
Траты на лекарственные препараты Costs of medicines	583,30	794,80
Диагностика (анализы, консультация) Diagnostics (tests, consultation)	9,60	185,20
Транспортные расходы Transportation costs	68,60	18,50
Прочий ущерб, связанный с болезнью Other damage related to the disease	189,90	185,20
Всего / Total	3125,40	2705,40

непрямые) затраты родителей детей 0–17 лет, больных ВО, в 2019 г. в Алтайском крае потенциально составляли 12 947 817,00 руб.

Оценка прямого и непрямого ущерба, связанного с заболеванием ВО детей 0–17 лет, с позиции государства (для региона Алтайский край)

Согласно данным нашего исследования, в зависимости от тяжести заболевания ВО количество посещений педиатра варьирует от 1 до 10, в среднем — 3 посещения. Согласно Программе государственных гарантий оказания гражданам РФ бесплатной медицинской помощи на 2019 г., стоимость первичного посещения педиатра составляет 544,03 руб., последующих посещений — 312,78 руб. Стоимость 1 случая стационарного лечения пациента с ВО — 36 838,53 руб.

Таким образом, стоимость амбулаторной помощи, оказанной за период исследования, составила 4 736 839,50 руб. (в среднем 1169,59 руб. на 1 амбулаторный случай ВО), стоимость стационарного лечения — 3 868 045,65 руб. Общие прямые затраты, связанные с лечением больных ВО 0–17 лет за счёт средств фонда обязательного медицинского страхования, за 1 календарный год в Алтайском крае составили 8 604 885,15 руб.

Непрямые затраты определяли величиной новопроизведённого валового регионального продукта. По данным Территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Алтайскому краю, валовый региональный продукт на душу населения в 2019 г. составил 271 319,70 руб. в год, соответственно — 743,34 руб. в день.

Согласно полученным в нашем исследовании данным, оформление больничного листа требуется 32% родителей детей, больных ВО, т.е. около 1330 человек за 1 календарный год. Продолжительность болезни составляла в среднем 9 дней. Таким образом, непрямым ущербом для государства на одного больного в среднем — 6690,08 руб., а для Алтайского края в целом — 9 974 592,72 руб.

Используя данные, полученные в настоящем исследовании, а также в ранее проведённом нами исследовании оценки заболеваемости ВО в Алтайском крае, мы оценили ущерб от заболеваний ВО детей 0–17 лет в Алтайском крае за один календарный год как с позиции государства, так и общества в целом. Общие затраты (прямые и непрямые) для Алтайского края (с позиции государства) составили 18 579 477,87 руб. Общий ЭУ, связанный с заболеванием ВО, оценённый с позиции общества в целом, за изучаемый период для Алтайского края составил 31 527 294,87 руб.

Обсуждение

Согласно данным государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического

благополучия населения Российской Федерации в 2019 году», ЭУ только от 35 инфекционных болезней превысил 646 млрд руб. [1]. Затраты на лечение ВО составили 28 999 139,7 тыс. руб., по величине ЭУ от инфекционных болезней она заняла 3-е место [1, 5].

Величина общего ЭУ, наносимого ВО, на примере г. Москвы в 2017 г. составила 1732,825 млн руб. [4]. ЭУ от заболевания ВО в Ярославской области составил более 52 млн руб. [9]. В Иркутской области суммарный ЭУ от заболевания ВО составил 116 363,3 тыс. руб. [10]. Экономические затраты на лечение госпитализированных детей (без учета затрат на амбулаторных пациентов) в г. Волгограде составили более 2,5 млн руб. [11]. Согласно нашим оценкам, общий ЭУ, наносимый ВО, за один 1 год (июль 2019 г. – июнь 2020 г.) в Алтайском крае составил 31 527 294,87 руб., из которого 74% составляют непрямые затраты — личные средства граждан и произведённый валовый региональный продукт.

Необходимо отметить, что практически все субъекты РФ имеют собственные дополнительные территориальные программы государственных гарантий оказания населению бесплатной медицинской помощи, которые предусматривают более высокие нормативы финансового обеспечения посещения амбулаторно-поликлинических учреждений и 1 случая госпитализации в больничные учреждения, чем в Алтайском крае [7].

Значительный ЭУ связан с широким распространением данного заболевания [3, 7, 12]. Утяжеление клинического течения ВО приводит к более длительному лечению и периоду наблюдения, что требует дополнительных ресурсов — как человеческих (увеличение количества посещений педиатра, длительный отпуск родителей с работы), так и финансовых (более дорогие лекарственные препараты, методы диагностики, транспортные расходы и т.д.) [4, 12]. «Повзросление» инфекции, увеличение числа осложнений и количества госпитализированных больных, приводит к еще большему экономическим затратам [2, 3, 13].

Косвенные расходы, связанные с пребыванием родителей на больничном, вносят значительный, но потенциально недооцененный вклад в экономический ущерб от ВО [14–16]. Так, сумма недополученных доходов в Алтайском крае за 1 год составила около 10 млн руб. При проведении исследования было отмечено, что 68% родителей не понадобилось оформление больничного листа, но они указывали сумму недополученных доходов во время болезни ребенка. В среднем сумма недополученных доходов составила 1635,70 руб., максимально — 30 000 руб., также 18,3% родителей для ухода за больным ребёнком привлекали родственников или воспользовались услугами няни. Родителям приходилось отменять командировки, были отложены запланированные походы в театр, соревнования, отдых.

Выводы

Впервые была проведена оценка ЭУ от заболевания ВО детей 0–17 лет в Алтайском крае с позиции как государства, так и общества в целом. На примере двух крупных поликлиник и одного детского инфекционного отделения больницы Барнаула был рассчитан ущерб от одного случая заболевания ВО, что при экстраполяции на Алтайский край позволило получить более полную информацию об ЭУ.

На протяжении более чем десятилетия ВО занимает одно из ведущих мест в рейтинге экономической значимости инфекционных болезней, однако до настоящего времени оценка ущерба с позиции общества в целом не проводилась, что говорит о потенциально недооценённом ЭУ. С каждым годом ЭУ, связанный с заболеванием ВО, возрастает, т.к. наблюдается «повзросление» инфекции, утяжеление течения заболевания и увеличение частоты госпитализации [2, 3, 8]. Учитывая значительный ЭУ от ВО, целесообразно рассмотрение вопроса о внедрении вакцинации против ВО в Национальный календарь профилактических прививок Российской Федерации.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. М.; 2020. С. 143, 155.
2. Зрячкин Н.И., Бучкова Т.Н., Чеботарева Г.И. Осложнения ветряной оспы (обзор литературы). *Журнал инфектологии*. 2017; 9(3): 117–28. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2017-9-3-117-128>
3. Ситник Т.Н., Штейнке Л.В., Габбасова Н.В. Ветряная оспа: «повзрослевшая» инфекция. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(5): 54–9. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-5-54-59>
4. Афонина Н.М. *Эпидемиологическая характеристика и меры профилактики инфекции, вызванной вирусом Varicella zoster*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2019.
5. Михеева М.А., Михеева И.В. Динамика рейтинга экономического ущерба от инфекционных болезней как критерий эффективности эпидемиологического контроля. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(2): 174–81. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-174-181>
6. Haugnes H., Flem E., Wisløff T. Healthcare costs associated with varicella and herpes zoster in Norway. *Vaccine*. 2019; 37(29): 3779–84. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.05.063>
7. Воронин Е.М., Шаханова И.Л., Михеева И.В., Лыткина И.Н., Филатов Н.Н. Оценка экономического ущерба, наносимого ветряной оспой в Российской Федерации. *Вопросы современной педиатрии*. 2011; 10(5): 18–23.
8. Передельская Е.А., Сафьянова Т.В. Ретроспективный анализ заболеваемости ветряной оспой в Алтайском крае и городе Барнауле за 2001–2019 годы. *Санитарный врач*. 2020; (9): 21–31. <https://doi.org/10.33920/med-08-2009-02>
9. Дружинина Т.А. Особенности эпидемиологии ветряной оспы в Ярославской области. Опыт вакцинопрофилактики. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011; (1): 28–32.
10. Алексеевская Т.И., Софронов О.Ю. К вопросу об экономической эффективности вакцинопрофилактики ветряной

оспы. В кн.: Гайдаров Г.М., ред. *Актуальные вопросы общественного здоровья и здравоохранения на уровне субъекта Российской Федерации: материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 100-летию Иркутского государственного медицинского университета (1919–2019). В двух томах. Том 1*. Иркутск; 2019: 67–74.

11. Крамарь Л.В., Арова А.А., Сейкина Е.А., Алёшин А.М. Обоснование и опыт использования вакцины для профилактики ветряной оспы в г. Волгограде. *Вопросы современной педиатрии*. 2012; 11(3): 79–82.
12. Габбасова Н.В., Штейнке Л.В., Ситник Т.Н., Белченко Н.С. Ветряная оспа: эпидемиологическая ситуация в Воронежской области, проблемы и пути решения. *Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья*. 2017; (67): 122–34.
13. Намазова-Баранова Л.С., Федосеев М.В., Баранов А.А. Новые горизонты Национального календаря профилактических прививок. *Вопросы современной педиатрии*. 2019; 18(1): 13–30. <https://doi.org/10.15690/vsp.v18i1.1988>
14. Unim B., Saulle R., Boccalini S., Taddei C., Ceccherini V., Boccia A., et al. Economic evaluation of Varicella vaccination: results of a systematic review. *Hum. Vaccin. Immunother*. 2013; 9(9): 1932–42. <https://doi.org/10.4161/hv.25228>
15. Macias-Parra M., Rodriguez-Weber M.A., Moreno-Espinosa S., Ceron-Trujillo B., Ojeda-Diezbarroso K., DeAntonio R., et al. Economic burden of varicella complications in two referral centers in Mexico. *Hum. Vaccin. Immunother*. 2018; 14(12): 2950–4. <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1504541>
16. Widgren K., Giesecke J., Lindquist L., Tegnell A. The burden of chickenpox disease in Sweden. *BMC Infect. Dis*. 2016; 16(1): 666. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1957-5>

REFERENCES

1. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population of the Russian Federation in 2019: State report. Moscow; 2020: 143, 155.
2. Zryachkin N.I., Buchkova T.N., Chebotareva G.I. Complications of chickenpox (literature review). *Zhurnal infektologii*. 2017; 9(3): 117–28. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2017-9-3-117-128> (in Russian)
3. Sitnik T.N., Shteynke L.V., Gabbasova N.V. Chicken-pox: "growing" up infection. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2018; 17(5): 54–9. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-5-54-59> (in Russian)
4. Afonina N.M. *Epidemiological characteristics and measures for the prevention of infection caused by the Varicella zoster virus*: Diss. Moscow; 2019. (in Russian)
5. Mikheeva M.A., Mikheeva I.V. Ranking dynamics of economic burden of infectious diseases as a criterion of effectiveness of epidemiologic control. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(2): 174–81. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-174-181> (in Russian)
6. Haugnes H., Flem E., Wisløff T. Healthcare costs associated with varicella and herpes zoster in Norway. *Vaccine*. 2019; 37(29): 3779–84. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.05.063>
7. Voronin E.M., Shakhanova I.L., Mikheeva I.V., Lytkina I.N., Filatov N.N. Assessment of economic damage caused by varicella infection. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2011; 10(5): 18–23. (in Russian)
8. Peredel'skaya E.A., Safyanova T.V. A retrospective analysis of the incidence of chickenpox in the Altai Territory and the city of Barnaul for 2001–2019. *Sanitarnyy vrach*. 2020; (9): 21–31. <https://doi.org/10.33920/med-08-2009-02> (in Russian)

9. Druzhinina T.A. Features of the epidemiology of chickenpox in the Yaroslavl region. Experience of vaccinal prevention. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2011; (1): 28–32. (in Russian)
10. Alekseevskaya T.I., Sofronov O.Yu. To the question about economic efficiency of vaccinal prevention of varicella. In: *Actual Problems of Public Health and Healthcare at the Level of Subject of the Russian Federation: Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference Dedicated to the 100th Anniversary of Irkutsk State Medical University (1919–2019). In Two Volumes. Volume 1 [Aktual'nye voprosy obshchestvennogo zdorov'ya i zdravookhraneniya na urovne sub"ekta Rossiyskoy Federatsii: materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 100-letiyu Irkutskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta (1919–2019). V dvukh tomakh. Tom 1]. Irkutsk; 2019: 67–74. (in Russian)*
11. Kramar' L.V., Arova A.A., Seykina E.A., Alyushin A.M. Substantiation and experience of the varicella vaccine usage in Volgograd. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2012; 11(3): 79–82. (in Russian)
12. Gabbasova N.V., Shteynke L.V., Sitnik T.N., Belichenko N.S. Varicella: epidemiological situation in the Voronezh region, the problems and solutions. *Nauchno-meditsinskiy vestnik Tsentral'nogo Chernozem'ya*. 2017; (67): 122–34. (in Russian)
13. Namazova-Baranova L.S., Fedoseenko M.V., Baranov A.A. New horizons of national immunization calendar. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2019; 18(1): 13–30. <https://doi.org/10.15690/vsp.v18i1.1988> (in Russian)
14. Unim B., Saulle R., Boccacini S., Taddei C., Ceccherini V., Boccia A., et al. Economic evaluation of Varicella vaccination: results of a systematic review. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2013; 9(9): 1932–42. <https://doi.org/10.4161/hv.25228>
15. Macias-Parra M., Rodriguez-Weber M.A., Moreno-Espinoza S., Ceron-Trujillo B., Ojeda-Diezbarroso K., DeAntonio R., et al. Economic burden of varicella complications in two referral centers in Mexico. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2018; 14(12): 2950–4. <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1504541>
16. Widgren K., Giesecke J., Lindquist L., Tegnell A. The burden of chickenpox disease in Sweden. *BMC Infect. Dis.* 2016; 16(1): 666. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1957-5>

Информация об авторах

Передельская Екатерина Александровна[✉] — ординатор каф. эпидемиологии, микробиологии и вирусологии АГМУ Минздрава России, Барнаул, Россия, katrin_05_07_1995@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4316-1096>

Сафьянова Татьяна Викторовна — д.м.н., зав. каф. эпидемиологии, микробиологии и вирусологии АГМУ, Барнаул, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3293-4265>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 12.11.2021;
принята к публикации 15.02.2022;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Ekaterina A. Peredelskaya[✉] — resident, Department of epidemiology, microbiology and virology, Altai State Medical University, Barnaul, Russia, katrin_05_07_1995@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4316-1096>

Tatyana V. Safyanova — D. Sci. (Med.), Head, Department of epidemiology, microbiology and virology, Altai State Medical University, Barnaul, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3293-4265>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 12.11.2021;
accepted for publication 15.02.2022;
published 28.02.2022



Влияние иммуномодуляторов на формирование поствакцинального противохолерного иммунитета

Филиппенко А.В.[✉], Иванова И.А., Омельченко Н.Д., Труфанова А.А.

Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Введение. В связи с остающейся напряжённой ситуацией по холере в мире продолжают создаваться профилактические препараты и разрабатываются способы повышения иммуногенности и протективности уже существующих вакцин против холеры. Сочетанное применение вакцин с иммуномодуляторами и цитокинами успешно применяется для специфической профилактики различных инфекций, в том числе и особо опасных.

Цель работы — экспериментальное изучение влияния иммуномодуляторов на иммуногенную и протективную активность вакцины холерной бивалентной химической с целью оценки возможности их использования для совершенствования специфической профилактики холеры.

Материалы и методы. Оценивали показатели клеточного и гуморального местного и системного иммунного ответа у экспериментальных животных, вакцинированных и получавших иммунотерапию, а также влияние иммуномодуляторов на протективную активность антигенов, входящих в состав вакцины холерной бивалентной химической.

Результаты. В ходе исследований выявлено, что применение иммуномодуляторов совместно с вакциной приводит к увеличению иммуногенных свойств антигенов. Иммуномодуляторы стимулируют дифференциацию CD4⁺-лимфоцитов, обеспечивая развитие иммунного ответа преимущественно по гуморальному пути, увеличивают количество В-лимфоцитов, антигенспецифических антителообразующих клеток, секреторного иммуноглобулина А в кишечнике вакцинированных экспериментальных животных. Иммуномодулятор глюкозаминилмурамилдипептид повышает протективные свойства антигенов, входящих в состав вакцины химической холерной бивалентной. Он наиболее эффективно защищал животных от генерализованной холеры.

Заключение. Использование иммуномодуляторов при противохолерной вакцинации, особенно глюкозаминилмурамилдипептида, может являться одним из подходов к совершенствованию специфической профилактики холеры.

Ключевые слова: холера, холерная вакцина, иммуномодуляторы, иммунотерапия, протективность, иммуногенность

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Ростовского-на-Дону противочумного института (протокол № 1 от 28.01.2021).

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

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

Для цитирования: Филиппенко А.В., Иванова И.А., Омельченко Н.Д., Труфанова А.А. Влияние иммуномодуляторов на формирование поствакцинального противохолерного иммунитета. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):81–92.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-188>

The influence of immunomodulators on the formation of vaccine-induced cholera immunity

Anna V. Filippenko[✉], Inna A. Ivanova, Natalia D. Omelchenko, Anastasia A. Trufanova

Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Introduction. Due to the remaining tense situation on cholera in the world, research continues on the creation of new preventive drugs, as well as ways to increase the immunogenicity of existing anti-cholera vaccines. The combined use of vaccines with immunomodulators and cytokines is successfully used for the specific prevention of various infections, including particularly dangerous ones.

The aim of the work is an experimental study of the effect of immunomodulators on the immunogenic and protective activity of the cholera bivalent chemical vaccine in order to assess the possibility of their use to improve the specific prevention of cholera.

Materials and methods. The parameters of cellular and humoral local and systemic immune response in experimental animals vaccinated and receiving immunotherapy, as well as the effect of immunomodulators on the protective activity of antigens that are part of the cholera bivalent chemical vaccine, were evaluated.

Results. The studies revealed that the use of immunomodulators in combination with the vaccine leads to an increase in the immunogenic properties of antigens. Immunomodulators stimulate the differentiation of CD4⁺-lymphocytes, ensuring the development of an immune response mainly along the humoral pathway, increase the number of B-lymphocytes, antigen-specific antibody-forming cells, as well as secretory immunoglobulin A in the intestines of vaccinated experimental animals. It is shown that the immunomodulator glucosaminylmuramyl dipeptide increases the protective properties of the antigens that are part of the chemical cholera bivalent vaccine. It was the most effective additive, since it protected all the animals included in the experiment from generalized cholera.

Conclusion. The use of immunomodulators in anti-cholera vaccination, especially with glucosaminylmuramyl dipeptide, may be one of the approaches to improving the specific prevention of cholera

Keywords: cholera, cholera vaccine, immunomodulators, immunotherapy, protectivity, immunogenicity

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Rostov-on-Don Plague Control Research Institute (Protocol No. 1, January 28, 2021).

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

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

For citation: Filippenko A.V., Ivanova I.A., Omelchenko N.D., Trufanova A.A. The influence of immunomodulators on the formation of vaccine-induced cholera immunity. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):81–92. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-188>

Введение

Продолжительные эпидемии, появление новых штаммов, вызывающих тяжёлые клинические формы, привлекают внимание медицинских кругов к проблеме совершенствования экстренной, специфической и неспецифической профилактики холеры. В России вакцинация против холеры включена в календарь профилактических прививок по эпидемиологическим показаниям. На базе Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» Роспотребнадзора производят лицензированную на национальном уровне вакцину таблетированную холерную бивалентную химическую [1]. Вакцина формирует иммунный ответ к возбудителю холеры, относящемуся к O1 серогруппе, который сохраняется у привитых не более 6 мес. Из-за напряжённой эпидемиологической обстановки в мире по холере назрела потребность в усовершенствовании существующей противохолерной вакцины, а также в создании новых современных безопасных химических отечественных вакцин против *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп [1]. Кроме того, необходимо учитывать, что эффективность вакцинации зависит не только от качества и особенностей используемых вакцин, но и от особенностей генотипа индивидуума, поэтому создание профилактических препаратов со стимулирующими компонентами по-

зволяет повысить их иммуногенность целенаправленным действием на иммунную систему организма [2].

Для увеличения иммуногенности различных антигенов, формирования полноценного иммунного ответа на вакцины и предотвращения развития поствакцинальных осложнений с успехом применяются цитокины и иммуномодуляторы.

Из литературы известно о положительных результатах применения иммуномодуляторов для совершенствования специфической и экстренной профилактики особо опасных инфекций. Так, доказана целесообразность введения глюкозаминилмурамилдипептид (ГМД) [3] и сальмозана [4] в схему экстренной и специфической профилактики сибирской язвы и специфической профилактики сибирской язвы. Показано повышение эффективности антибактериальной терапии при острой инфекции *Burkholderia pseudomallei* с помощью применения интерферона- γ [5, 6]. Включение иммунофана в схему экстренной профилактики экспериментального мелиоидоза антибиотиком доксициклином повышало выживаемость и среднюю продолжительность жизни животных [7]. Сочетанное использование рекомбинантных цитокинов и мелиоидозных антигенов стимулировало макрофагально-фагоцитарную систему и показатели клеточного и гуморального иммунитета [8]. Показано также,

что введение при первичной и вторичной иммунизации липосомальными мелиоидозными антигенами цитокинов (интерферона- γ и интерлейкина-2) и препарата бестим обеспечивало более высокий уровень реагирования систем клеточного иммунитета и увеличение иммуногенных и протективных свойств антигенов [9, 10]. Н.В. Богачева и соавт. выявили, что ГМД стимулировал клеточное звено иммунитета у вакцинированных живой бруцеллезной вакциной экспериментальных животных, существенно уменьшая сенсибилизацию организма. При этом риск развития побочных реакций и осложнений значительно снижался [11], защитный эффект вакцины повышался даже при заражении высокой дозой вирулентного штамма возбудителя [11]. Использование азоксимера бромида (АБ) при моделировании противотуляремийного вакцинного процесса приводило к увеличению титров специфических антител на фоне длительной активации спленоцитов и пониженной интенсивности повреждения макрофагов в селезёнке и брюшной полости [12]. Зарубежные исследователи получили положительные результаты при использовании интерлейкина-12 для совершенствования как специфической [13], так и экстренной профилактики легочной туляремии [14]. Применение в качестве адьюванта интерлейкина-12 также оказалось перспективным и при экспериментальной лёгочной чуме у иммунизированных мышей [15]. Показана адьювантная способность препарата беталейкина (рекомбинантного интерлейкина-1 β) и АБ в отношении иммуногенной и протективной активности живой противочумной вакцины в опытах на взрослых кроликах и морских свинках [16, 17]. Полученные С.Н. Ключевой и соавт. данные свидетельствуют об эффективности АБ во время вакцинации (ревакцинации) против чумы [18]. АБ и даларгин усиливают протективные свойства вакцинного штамма чумного микроба (*Yersinia pestis EV*), что свидетельствует о целесообразности применения иммуноадьювантов в схеме специфической и экстренной профилактики чумы [19].

Все вышеизложенное свидетельствует об эффективности применения цитокинов и иммуномодуляторов при профилактике особо опасных инфекций. Подход с использованием комплекса вакцины и иммуномодулирующих препаратов может быть также полезен для совершенствования специфической профилактики холеры. Препараты, обладающие иммуномодулирующим действием на формирование поствакцинального противохолерного иммунитета, должны стимулировать как местный, так и системный иммунный ответ.

Цель работы — изучение влияния иммунопрепаратов на формирование клеточного и гуморального иммунных ответов на вакцину холерную бивалентную химическую у экспериментальных животных.

Материалы и методы

В работе были использованы беспородные белые мыши массой 16–20 г в возрасте 6–10 нед, полученные из питомника Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора.

Пероральную иммунизацию беспородных белых мышей проводили с помощью хирургических игл с насаженными на них полиэтиленовыми оливами. Перед иммунизацией экспериментальных животных поили 5% раствором пищевой соды (по 0,1 мл) для снижения повреждающего действия желудочного сока на противохолерную вакцину. Прививочную дозу рассчитывали согласно массе вакцинируемых животных, исходя из человеко-дозы, рекомендованной производителем.

Использовали следующие иммуномодуляторы: АБ, натрия дезоксирибонуклеат (НД), ГМД (все — производства России).

Иммуномодуляторы вводили однократно одновременно с вакциной: АБ — по 1,7 мкг; НД — по 20,0 мкг; ГМД — по 2,85 мкг. Дозу препаратов также рассчитывали, исходя из человеко-дозы, рекомендованной производителем. Животные контрольных групп (интактные) не получали никаких препаратов.

Оценку влияния иммунокоррекции на формирование противохолерного иммунного ответа проводили на 1, 2 и 3-й неделе поствакцинального периода.

Спленоциты получали путём мягкой деструкции селезёнок в гомогенизаторе типа Даунса в забуференном фосфатами физиологическом растворе. Клетки дважды отмывали центрифугированием при 1000 об/мин в течение 7–10 мин. Жизнеспособность спленоцитов определяли в автоматическом счётчике клеток «Countess™», окрашивая их 0,2% трипановым синим. Суспензия содержала 90–96% жизнеспособных лимфоцитов (Лф).

Пейеровы бляшки (ПБ) выделяли в стерильных условиях в ламинарном укрытии. Мышей подвергали эвтаназии, соблюдая правила гуманного обращения с экспериментальными животными. Для стерильного выделения кишечника осуществляли разрез кожи и после вскрытия брюшной полости извлекали участок тонкой кишки, ограниченный двумя лигатурами длиной 15 см. Затем выделенные фрагменты 3 раза промывали шприцем, разрежали, фиксировали на стерильном деревянном столике и выделяли ПБ, имевшие вид мелких белесоватых крупинок. В промывных водах определяли секреторный иммуноглобулин А (sIgA). Выделенные ПБ помещали в охлаждённую до 4°C культуральную среду RPMI-1640, измельчали путём мягкой деструкции в гомогенизаторе типа Даунса. Клеточную суспензию набирали в 10 мл шприц (игла № 16), переносили в центрифужные пробирки объёмом 20 мл на слой градиента фиколл-верографин

($d = 1,077$ г/л) и центрифугировали в течение 5 мин при 1000 об/мин. Клетки из интерфазы трижды отмывали охлажденной средой путём центрифугирования при 1000 об/мин в течение 7–10 мин, суспендировали в среде с 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Затем отбирали аликвоту для подсчёта клеток и определения их жизнеспособности с помощью окрашивания 0,2% трипановым синим в автоматическом счетчике клеток «Countess™». Приготовленная таким способом суспензия клеток содержала 96–98% жизнеспособных Лф.

Популяции и субпопуляции Лф определяли с помощью моноклональных антител к CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ мыши («eBioscience», США). Спленоциты и Лф ПБ окрашивали моноклональными антителами согласно инструкции производителя и анализировали на проточном цитометре «Navios™» («Beckman Coulter»).

Определение общего количества антителообразующих клеток (АОК) осуществляли с помощью метода иммуноферментных зон ELISPOT [20].

Определение количества sIgA проводили в промывных водах тонкого кишечника мышей с помощью набора «Enzyme-linked immunosorbent assay kit for sIgA» («Cloud-Clone Corp.») согласно инструкции производителя. Количество sIgA оценивали на многофункциональном ридере «Synergy™2» («BioTek Instruments Inc.»).

Способность иммуномодуляторов повышать протективную активность холерной вакцины оценивали, заражая животных через месяц вирулентным штаммом *Vibrio cholerae* O1 569B. В работе использовали модель генерализованной формы холеры у мышей, которая применяется для определения иммуногенности вакцин и оценки эффективности антибиотикотерапии при холере. Культуры выращивали при 37°C в течение 18 ч и готовили 1 млрд взвесь в забуференном фосфатами физиологическом растворе по стандарту мутности. Агар Нобля («Difco») растворяли в дистиллированной воде, кипятили в течение 30 мин на водяной бане при постоянном помешивании, охлаждали до 45°C и соединяли с 1 млрд взвесью культуры в соотношении 1 : 1 до конечной концентрации агара 0,2%. Полученной взвесью *V. cholerae* O1 569B в агаризированном забуференном физиологическом растворе заражали белых мышей внутрибрюшинно в дозе 2×10^8 микробных клеток в объёме 0,2 мл. О развитии генерализованной инфекции у белых мышей судили по количеству павших животных на 3-и сутки после заражения при 100% гибели контрольных (интактных) мышей в течение 1 сут.

При работе с экспериментальными животными руководствовались международными принципами, изложенными в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» ETS

№ 123 (Страсбург, 1986), Приказом Минздрава России от 01.04.2016 № 199Н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», на все эксперименты получено положительное заключение Этического комитета при Ростовском-на-Дону противочумном институте Роспотребнадзора.

Статистический анализ материалов осуществляли с помощью программ «Microsoft Excel 2010» и «StatSoft». Определяли значения доверительных интервалов (L) среднеарифметического (M) для уровня достоверности (p) 95%. Достоверность различий определяли по *t*-критерию Стьюдента. Уровень $p < 0,05$ расценивали как значимый.

Результаты

При исследовании влияния вакцинации на популяционный состав Т-Лф селезенки и ПБ выявлено достоверное ($p < 0,05$) увеличение числа CD3⁺-Лф селезенки по сравнению с интактными животными ($62,00 \pm 1,68$ и $57,00 \pm 1,38$ соответственно), а также Т-клеток ПБ ($62,0 \pm 1,6$ и $54,0 \pm 1,8$ соответственно) с 7-х суток поствакцинального периода.

АБ, ГМД и НД стимулировали пролиферацию Т-Лф в селезенке животных опытных групп ($66,0 \pm 1,6$; $64,00 \pm 1,24$ и $65 \pm 1,34$ соответственно) по сравнению с вакцинированными мышами ($60,00 \pm 1,36$) с конца 1-й недели поствакцинального периода (рис. 1, а) и до конца срока наблюдения ($70,00 \pm 1,68$; $66,0 \pm 1,7$; $68,00 \pm 1,34$ соответственно).

Применение иммуномодуляторов вызывало достоверное ($p < 0,05$) увеличение количества CD3⁺-Лф в ПБ вакцинированных животных, регистрируемое на 7-е сутки наблюдения ($69,0 \pm 1,8$; $67,0 \pm 1,5$ и $68,0 \pm 1,4$ соответственно) по сравнению с этими показателями белых мышей, получивших только вакцину ($62,0 \pm 1,6$) (рис. 1, б). Такая же тенденция наблюдалась нами и в течение 3-й недели эксперимента ($74,0 \pm 1,8$; $67,0 \pm 1,7$ и $70,0 \pm 1,4$ соответственно).

При определении количества В-Лф у вакцинированных белых мышей выявлено усиление их пролиферации на 1-й неделе в селезенке ($18,00 \pm 1,36$) и ПБ ($19,0 \pm 1,6$) и до конца 3-й недели поствакцинального периода — в селезенке ($20,0 \pm 1,7$) и ПБ ($21,0 \pm 1,7$), по сравнению с интактными животными ($14,00 \pm 1,02$ и $14,0 \pm 1,2$ соответственно).

У животных опытных групп, получавших при вакцинации АБ, ГМД и НД, с конца 1-й недели наблюдения регистрировали значительное увеличение количества CD19⁺-Лф как в селезенке ($29,00 \pm 1,36$; $24,00 \pm 1,02$ и $26,00 \pm 1,68$ соответственно), так и в ПБ ($29,0 \pm 1,3$; $24,0 \pm 1,2$ и $26,0 \pm 1,6$ соответственно) по сравнению с группой вакцинированных мышей ($18,00 \pm 1,36$ и $19,0 \pm 1,6$ соответственно) (рис. 2). В конце эксперимента наблюдалась такая же тенденция. При этом АБ, по сравнению с другими иммуномодуляторами, в несколько большей

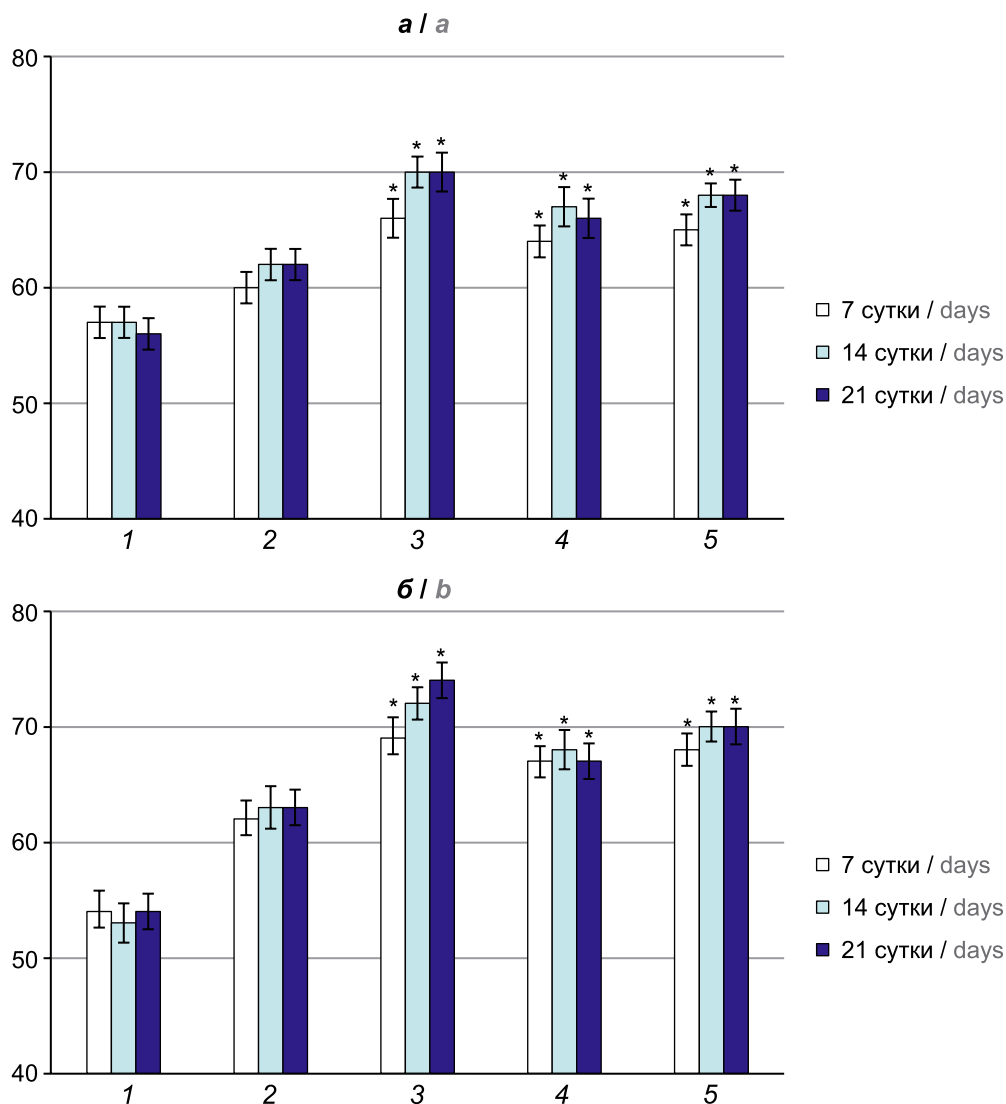


Рис. 1. Влияние АБ, ГМД и НД на количество CD3⁺-Лф (%) в селезёнке (а) и ПБ (б) вакцинированных белых мышей.

1 — контроль; 2 — вакцина; 3 — вакцина + АБ; 4 — вакцина + ГМД; 5 — вакцина + НД.

* $p < 0,05$ по сравнению с вакцинированными мышами (t -критерий Стьюдента).

Fig. 1. Effect of azoximer bromide, glucosaminylmuramyl dipeptide, and sodium deoxyribonucleate on the number of CD3⁺-lymphocytes in the spleen (a) and in the Peyer plaques (b) of vaccinated white mice.

1 — control; 2 — vaccine; 3 — vaccine + azoximer bromide; 4 — vaccine + glucosaminylmuramyl dipeptide; 5 — vaccine + sodium deoxyribonucleate.

* $p < 0.05$ compared to vaccinated mice (Student's t -test).

степени ($p < 0,05$) стимулировал пролиферацию В-клеток в ПБ ($29,0 \pm 1,4$; $25,00 \pm 1,06$ и $25,0 \pm 1,1$ соответственно) и в селезёнке ($30,00 \pm 1,04$; $25,00 \pm 1,08$ и $26,0 \pm 1,0$ соответственно).

При изучении субпопуляционного состава Т-Лф селезенки и ПБ у вакцинированных экспериментальных животных установлено увеличение числа CD4⁺-Лф в селезёнке ($30,00 \pm 1,36$) и в ПБ ($33,0 \pm 1,6$) уже с 7-х суток поствакцинального периода по сравнению с контрольными мышами ($25,0 \pm 1,4$ и $25,00 \pm 1,04$ соответственно) (рис. 3). Применение всех иммуномодуляторов при вакцинации стимулирует, начиная с 7-х суток, этот процесс в селезёнке ($36,00 \pm 1,02$; $34,00 \pm 1,04$ и $35,0 \pm 1,7$ соответственно), сохраняя пролиферацию Т-хел-

перов на высоком уровне по сравнению с группой вакцинированных животных ($3,30 \pm 1,06$) до конца срока наблюдения ($42,0 \pm 1,2$; $39,00 \pm 1,72$ и $39,0 \pm 1,4$ соответственно).

В ПБ иммуномодуляторы увеличивали, по сравнению с группой вакцинированных животных ($33,0 \pm 1,3$), пролиферацию Т-хелперов, начиная с 14-х суток ($46,0 \pm 1,6$; $39,0 \pm 1,2$ и $40,0 \pm 1,3$ соответственно) и до конца 3-й недели поствакцинального периода ($44,0 \pm 1,2$; $40,0 \pm 1,7$ и $41,0 \pm 1,4$ соответственно). Особенно стимулирует этот процесс АБ (рис. 3).

Оценка влияния иммуномодуляторов на пролиферативную активность субпопуляции CD8⁺-Лф вакцинированных белых мышей не выявила достоверного увеличения их количества у всех опытных

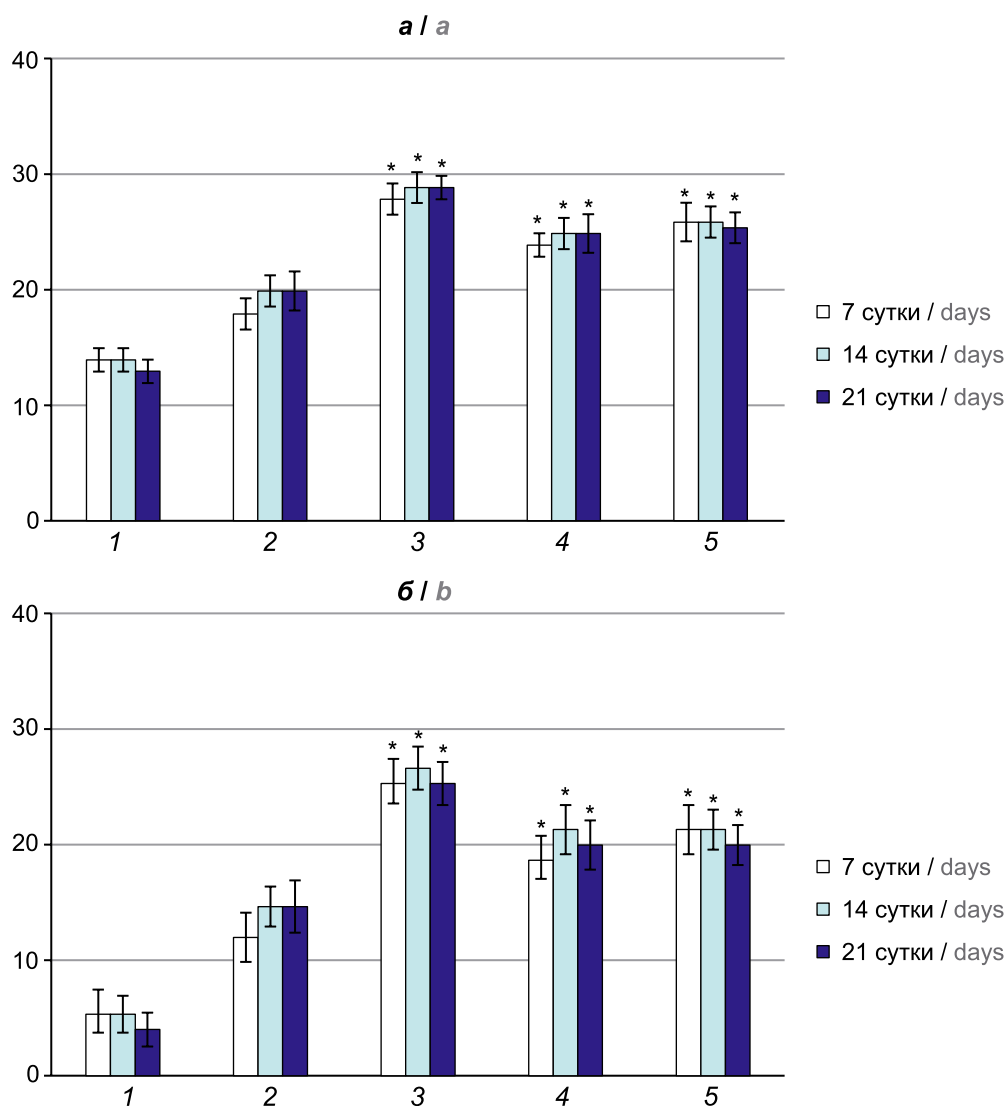


Рис. 2. Влияние АБ, ГМД и НД на содержание В-Лфв в селезёнке (а) и ПБ (б) вакцинированных белых мышей.

1 — контроль; 2 — вакцина; 3 — вакцина + АБ; 4 — вакцина + ГМД; 5 — вакцина + НД.

* $p < 0,05$ по сравнению с вакцинированными мышами (t -критерий Стьюдента).

Fig. 2. Comparative assessment of the effect of azoximer bromide, glucosaminylmuramyl dipeptide, and sodium deoxyribonucleate on the number of B-lymphocytes in the spleen (a) and in the Peyer plaques (b) of vaccinated white mice.

1 — control; 2 — vaccine; 3 — vaccine + azoximer bromide; 4 — vaccine + glucosaminylmuramyl dipeptide;

5 — vaccine + sodium deoxyribonucleate.

* $p < 0.05$ compared to vaccinated mice (Student's t -test).

групп животных по сравнению с контрольной группой.

Определение количества АОК у экспериментальных животных показало, что вакцинация запускает процесс образования этих клеток в ПБ белых мышей. Уже на 3-и сутки после иммунизации количество АОК возросло ($43,0 \pm 2,1$) по сравнению с контрольными (интактными) животными, у которых эти клетки не регистрировались.

Результаты исследований показали, что у всех иммунизированных животных, получавших иммунопрепараты, статистически достоверно ($p < 0,05$) увеличивалось количество антигенспецифических АОК уже на 1-й неделе поствакцинального перио-

да ($77,0 \pm 2,3$; $60,0 \pm 2,8$ и $58,0 \pm 2,0$ соответственно) по сравнению с вакцинированными мышами ($43,0 \pm 2,1$) (рис. 4). Значительное увеличение антигенспецифических АОК под влиянием иммуномодуляции, по сравнению с вакцинированными мышами ($93,0 \pm 1,8$), регистрировали с 7-х суток после вакцинации ($193,0 \pm 3,1$; $135,0 \pm 2,3$ и $108,0 \pm 2,7$ соответственно), особенно под влиянием АБ. К 21-м суткам количество АОК при применении АБ оставалось достоверно выше ($385,0 \pm 7,1$), чем у мышей, получавших ГМД и НД ($355,0 \pm 7,6$ и $339,0 \pm 8,4$ соответственно) и вакцинированных ($295,0 \pm 10,1$), что свидетельствовало о формировании большего количества клеток иммунологической памяти.

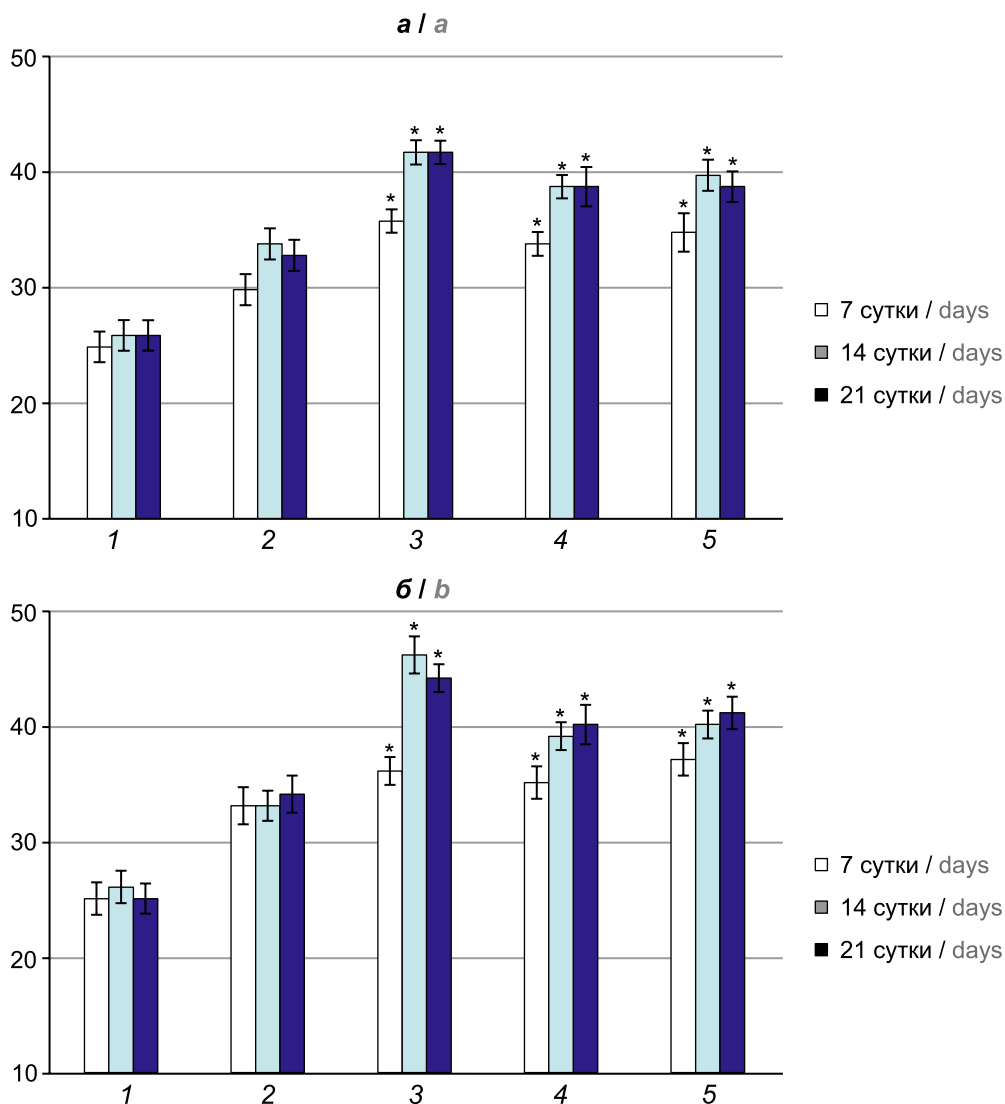


Рис. 3. Влияние АБ, ГМД и НД на содержание CD4⁺-Лф в селезёнке (а) и в ПБ (б) вакцинированных белых мышей.

1 — контроль; 2 — вакцина; 3 — вакцина + АБ; 4 — вакцина + ГМД; 5 — вакцина + НД.

* $p < 0,05$ по сравнению с вакцинированными мышами (t -критерий Стьюдента).

Fig. 3. Comparative assessment of the effect of azoximer bromide, glucosaminylmuramyl dipeptide, and sodium deoxyribonucleate on the number of B-lymphocytes in the spleen (a) and in the Peyer plaques (b) of vaccinated white mice.

1 — control; 2 — vaccine; 3 — vaccine + azoximer bromide; 4 — vaccine + glucosaminylmuramyl dipeptide;

5 — vaccine + sodium deoxyribonucleate.

* $p < 0.05$ compared to vaccinated mice (Student's t -test).

При оценке антителообразования в тонком кишечнике белых вакцинированных мышей установлено, что вакцинация уже на 7-е сутки стимулирует у них продукцию sIgA ($6,2 \pm 0,4$) (рис. 5) по сравнению с интактными животными ($4,0 \pm 0,5$). У иммунизированных мышей, получавших иммуномодуляторы, синтез sIgA идёт более интенсивно с начала ($9,50 \pm 0,18$; $8,30 \pm 0,11$ и $7,50 \pm 0,15$) и до окончания наблюдения ($12,5 \pm 0,6$; $9,2 \pm 0,3$ и $8,2 \pm 0,5$) по сравнению с группой вакцинированных животных ($6,2 \pm 0,4$ и $6,9 \pm 0,8$), что свидетельствует о положительном влиянии иммуномодуляции на этот процесс. Наибольшее количество sIgA зарегистрировано у мышей, получавших АБ.

Результаты экспериментов по изучению влияния иммуномодуляторов на способность вакцины защищать мышей от генерализованной холеры показали, что из всех препаратов наибольшей стимулирующей активностью обладали ГМД (выжили 100% вакцинированных животных) и АБ (остались живы около 90% мышей; таблица), что достоверно превышало количество выживших вакцинированных животных ($p = 0,0001$ и $p = 0,024$ соответственно). У животных, получавших НД, генерализованная холера не развилась примерно у 80% мышей, что соответствовало количеству выживших вакцинированных животных ($p > 0,05$). Интактные мыши контрольной группы погибли.

Обсуждение

При некоторых опасных инфекционных болезнях проводится вакцинация по медицинским показаниям, т.е. вакцинируются люди, подверженные риску в тех регионах, где могут встречаться социально значимые инфекции. Многочисленные наблюдения демонстрируют, что среди контингента прививаемых есть слабо реагирующие или не отве-

чающие на вакцину. Кроме того, у лиц с хроническими заболеваниями напряжённость поствакцинального иммунного ответа может быть ниже, чем у практически здоровых лиц, что обуславливает необходимость применения особых подходов к вакцинации против инфекционных болезней [21]. Использование цитокинов, иммуномодуляторов при вакцинации повышает иммуногенность и протек-

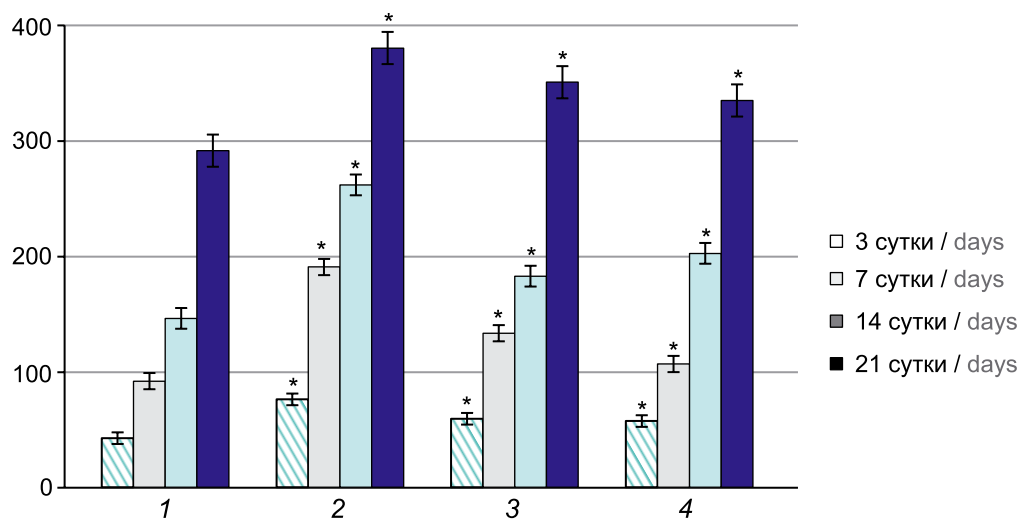


Рис. 4. Влияние АБ, ГМД и НД на количество АОК в ПБ вакцинированных белых мышей.

1 — вакцина; 2 — вакцина + АБ; 3 — вакцина + ГМД; 4 — вакцина + НД.

* $p < 0,05$ по сравнению с вакцинированными мышами (t -критерий Стьюдента).

Fig. 4. Comparative assessment of the effect of azoximer bromide, glucosaminylmuramyl dipeptide, and sodium deoxyribonucleate on the number of antibody-forming cells in the Peyer plaques of vaccinated white mice.

1 — vaccine; 2 — vaccine + azoximer bromide; 3 — vaccine + glucosaminylmuramyl dipeptide; 4 — vaccine + sodium deoxyribonucleate.

* $p < 0.05$ compared to vaccinated mice (Student's t -test).

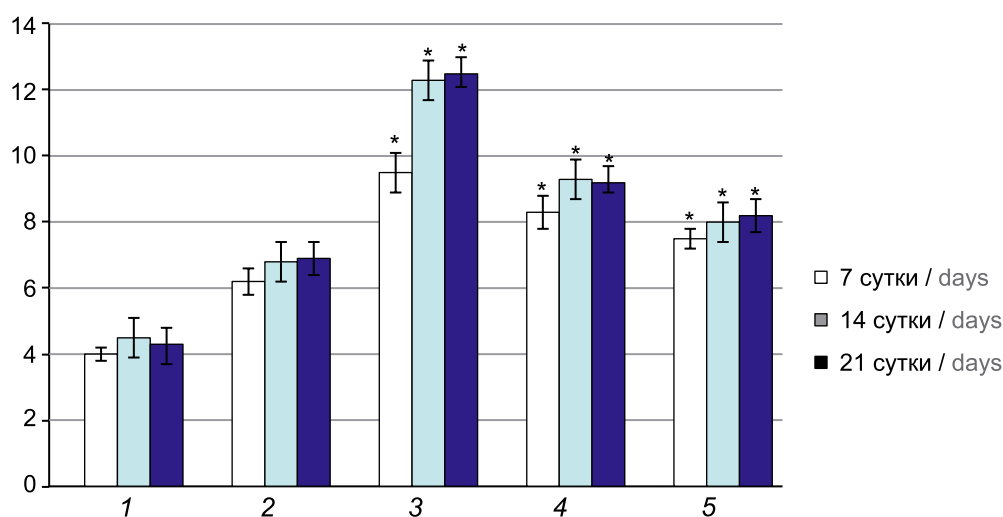


Рис. 5. Влияние АБ, ГМД и НД на продукцию sIgA в кишечнике вакцинированных белых мышей.

1 — контроль; 2 — вакцина; 3 — вакцина + АБ; 4 — вакцина + ГМД; 5 — вакцина + НД.

* $p < 0,05$ по сравнению с вакцинированными мышами (t -критерий Стьюдента).

Fig. 5. Comparative assessment of the effect of azoximer bromide, glucosaminylmuramyl dipeptide, and sodium deoxyribonucleate on sIgA production in the intestines of vaccinated white mice.

1 — control; 2 — vaccine; 3 — vaccine + azoximer bromide; 4 — vaccine + glucosaminylmuramyl dipeptide; 5 — vaccine + sodium deoxyribonucleate.

* $p < 0.05$ compared to vaccinated mice (Student's t -test).

Оценка способности АБ, ГМД и НД повышать протективные свойства противохолерной вакцины на модели генерализованной холерной инфекции у белых мышей

Evaluation of the ability of azoximer bromide, sodium deoxyribonucleate, glucosaminylmuramyl dipeptide to increase the protective properties of the cholera vaccine on a model of generalized cholera infection in white mice

Группа животных Animal group	Количество заражённых животных Number of infected animals	Количество выживших животных после заражения <i>V. cholerae</i> O1 569B Number of surviving animals after infection with <i>V. cholerae cholerae</i> 569B	Протективность, % Protectivity, %
Контрольные Control	30	0	–
Вакцинированные Vaccinated	30	21,00 ± 1,65	70,0 ± 5,5*
Вакцинированные + АБ Vaccinated + azoximer bromide	30	27,0 ± 2,0	90,0 ± 6,7**
Вакцинированные + НД Vaccinated + sodium deoxyribonucleate	30	24,00 ± 1,23	80,0 ± 4,1*
Вакцинированные + ГМД Vaccinated + glucosaminylmuramyl dipeptide	30	30,00 ± 0,00	100**

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными; ** $p < 0,05$ по сравнению с вакцинированными животными.
Note. * $p < 0.05$ compared to intact animals; ** $p < 0.05$ compared to vaccinated animals.

тивность вакцин и предотвращает развитие вторичных иммунодефицитных состояний [22, 23].

В России лицензирована и производится одна противохолерная вакцина — вакцина таблетированная холерная бивалентная химическая (РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора). Она состоит из смеси холерогена-анатоксина и О-антигенов, полученных из инактивированных формалином бульонных культур *V. cholerae* O1 классического биовара штаммов 569В или KM76 серовара Инаба и M41 серовара Огава [1], что обеспечивает формирование иммунитета к обоим сероварам холерных вибрионов, который сохраняется около 6 мес [24].

Учитывая положительные результаты, полученные при использовании иммуномодулирующих препаратов для повышения эффективности вакцинации других особо опасных инфекций [3–5, 8–19], мы отобрали иммуномодуляторы, использование которых может быть эффективным для совершенствования специфической профилактики холеры. Эти препараты должны обладать комплексным иммуномодулирующим действием как на системный, так и на местный иммунитет, поэтому мы остановили свой выбор на трех иммуномодуляторах. АБ (сополимер N-окси-1,4-этиленпиперазина и N-карбокси-1,4-этиленпиперазин бромид) стимулирует продукцию антител, фагоцитоз, восстанавливает иммунные реакции при вторичных иммунодефицитных состояниях, увеличивает резистентность организма в отношении локальных и генерализованных инфекций, обладает противовоспалительным действием и т.д. НД (натриевая соль дезоксирибонуклеиновой кислоты) повышает сопротивляемость к вирусным, грибковым, бактериальным инфекциям, а также стимулирует репаративные

процессы на слизистых оболочках. ГМД (синтетический аналог структурного фрагмента оболочки — пептидогликана бактериальных клеток) является активатором врожденного и приобретенного иммунитета, усиливает защиту организма от вирусных, бактериальных и грибковых инфекций, оказывает адьювантный эффект в развитии иммунологических реакций.

В процессе формирования поствакцинального иммунитета происходит перераспределение популяций и субпопуляций Лф, поэтому мы изучили влияние иммунопрепаратов на количественный и качественный состав спленоцитов и Лф ПБ вакцинированных белых мышей.

Выявлено, что сочетанное применение иммуномодуляторов и вакцины приводило к увеличению, по сравнению с контрольными и вакцинированными животными, числа CD3⁺-Лф и В-клеток селезенки и ПБ на 1-й неделе поствакцинального периода. Этот эффект регистрировался до конца срока наблюдения. Также иммуномодуляторы оказывали стимулирующее действие на субпопуляцию Т-хелперов, сохраняя до конца 3-й недели их количество на уровне, превышающем таковой у контрольных и вакцинированных белых мышей.

Интенсивность формирования гуморального иммунного ответа основывается на анализе количества антигенспецифических АОК, синтезирующих иммуноглобулины. Под действием иммуномодуляторов, особенно АБ, у животных всех опытных групп регистрировалось увеличение числа АОК в ПБ по сравнению с вакцинированными животными.

В настоящее время не вызывает сомнений, что эффективность защиты от холеры связана с фор-

мированием напряжённого иммунитета слизистых оболочек, ведущую роль в котором играют IgA. Дефицит IgA приводит к беспрепятственному проникновению вирусов и бактериальных антигенов, в том числе холерного вибриона, в слизистые оболочки. При оценке влияния иммуномодуляторов на продукцию sIgA в кишечнике вакцинированных белых мышей выявлено, что во все сроки наблюдения этот процесс идёт более интенсивно у животных, получавших иммунотерапию, особенно АБ, чем у вакцинированных белых мышей.

Таким образом, применение иммуномодуляторов повышает иммуногенные свойства вакцины холерной бивалентной химической.

Протективные свойства антигенов, входящих в состав противохолерной вакцины, наиболее эффективно стимулировал ГМД, который защищал от генерализованной холеры всех взятых в эксперимент вакцинированных животных. Высокая эффективность ГМД при заражении животных может быть связана с его структурой. ГМД имитирует естественный процесс обнаружения фрагментов пептидогликана бактерий, поэтому действие препарата в наибольшей степени приближено к процессу естественной иммунорегуляции. Кроме этого, мурамилдипептиды обладают адьювантной активностью [25]. Повышение иммуногенной и протективной активностей холерной вакцины за счёт сочетанного применения её с иммуномодуляторами, особенно с ликопидом, может являться одним из подходов к совершенствованию специфической профилактики холеры.

Выводы

1. Сочетанное применение иммуномодуляторов и вакцины приводит к увеличению, по сравнению с контрольными и вакцинированными животными, числа CD3⁺-Лф и В-клеток селезёнки и ПБ уже на 1-й неделе поствакцинального периода.

2. Иммуномодуляторы стимулируют пролиферацию Т-хелперов, сохраняя их количество на уровне, превышающем таковой у контрольных и вакцинированных белых мышей, до конца срока наблюдения.

3. Под действием иммуномодуляторов у животных всех опытных групп регистрируется увеличение числа АОК в ПБ.

4. При оценке продукции sIgA в кишечнике вакцинированных белых мышей выявлено, что во все сроки наблюдения этот процесс идет более интенсивно у животных, получавших иммунотерапию.

5. Протективные свойства противохолерной вакцины наиболее эффективно стимулирует ГМД, который защищает от генерализованной холеры всех взятых в эксперимент вакцинированных животных.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ


- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Щуковская Т.Н., Смирнова Н.И., Никифоров А.К., Еремин С.А. и др. Специфическая профилактика холеры в современных условиях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011; (1): 5–12. [https://doi.org/10.21055/0370-1069-2011-1\(107\)-5-12](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2011-1(107)-5-12)
- Петров Р.В., Хайтов Р.М. *Иммуногены и вакцины нового поколения: руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
- Коготкова О.И., Буравцова Н.П., Ефременко Е.И., Ефременко В.И., Аксенова Л.Ю. Сочетанное применение в эксперименте живой противосибирязвенной вакцины СТИ с ликопидом. *Иммунология*. 2004; 25(2): 109–11.
- Пименов Е.В., Кожухов В.В., Строчков Ю.И. Создание вакцин против сибирской язвы. *Природа*. 2000; (10): 12–9.
- Lauw F.N., Simpson A.J., Prins J.M., van Deventer S.J., Chao-wagul W., White N.J., et al. The CXC chemokines gamma interferon (IFN-gamma) – inducible protein 10 and monokine induced by IFN-gamma are released during severe melioidosis. *Infect. Immun.* 2000; 68(7): 3888–93. <https://doi.org/10.1128/iai.68.7.3888-3893.2000>
- Propst K.L., Troyer R.M., Kellihan L.M., Schweizer H.P., Dowet S.W. Immunotherapy markedly increases the effectiveness of antimicrobial therapy for treatment of *Burkholderia pseudomallei* infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(5): 1785–92. <https://doi.org/10.1128/AAC.01513-09>
- Хабарова И.А., Жукова С.И., Ротов К.А., Снатенков Е.А., Топорков А.В., Викторов Д.В. Экстренная профилактика экспериментального мелиоидоза с использованием синтетических иммуномодуляторов и гетерологичных вакцин. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2018; 22(3): 340–50. <https://doi.org/10.22363/2313-0245-2018-22-3-340-350>
- Жукова С.И., Демьянова О.Б., Алексеев В.В., Авророва И.В., Храпова Н.П., Дрефс Н.М. и др. Использование цитокинов для усиления иммуногенных и иммунотропных свойств антигенов *Burkholderia pseudomallei*. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2011; (1): 43–8.
- Жукова С.И., Демьянова О.Б., Авророва И.В., Занкович А.А., Алексеев В.В., Храпова Н.П. и др. Способ повышения иммуногенности антигенов *B. pseudomallei* при экспериментальном мелиоидозе. Патент РФ № 2483752С1; 2013.
- Демьянова О.Б., Жукова С.И., Занкович А.А., Храпова Н.П., Ротов К.А., Сингюрина Н.Н. и соавт. Использование цитокинов и синтетических пептидов для повышения иммуногенности мелиоидозных антигенов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (3): 83–5. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2014-3-83-85>
- Богачева Н.В., Охупкина В.Ю., Пяткова Н.В., Федотов А.К., Кучеренко А.С. Экспериментальное изучение влияния иммуномодуляторов на эффективность применения вакцины бруцеллезной живой сухой. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(2): 84–92. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-2-84-92>
- Кравцов А.Л., Ключева С.Н., Бугоркова С.А. Влияние иммуномодуляторов на реактивность клеток иммунной системы при моделировании противотуберкулезного вакцинного процесса. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(3): 94–101. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-3-94-101>
- Duckett N.S., Olmos S., Durrant D.M., Metzger D.W. Intranasal interleukin-12 treatment for protection against respiratory infection with the *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Infect. Immun.* 2005; 73(4): 2306–11. <https://doi.org/10.1128/iai.73.4.2306-2311.2005>
- Pammit M.A., Budhavarapu V.N., Raulie E.K., Klose K.E., Teale J.M., Arulanandam B.P. Intranasal interleukin-12 treatment promotes antimicrobial clearance and survival in pulmonary *Francisella tularensis* subsp. novicida infection. *Antimi-*

- croh. Agents Chemother.* 2004; 48(12): 4513–9.
<https://doi.org/10.1128/aac.48.12.4513-4519.2004>
15. Kumar D., Kirimanjeswara G., Metzger D.W. Intranasal administration of an inactivated *Yersinia pestis* vaccine with interleukin-12 generates protective immunity against pneumonic plague. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(11): 1925–35.
<https://doi.org/10.1128/CVI.05117-11>
 16. Каральник Б.В., Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Денисова Т.Г., Мельникова Н.Н., Тугамбаев Т.И. и др. Влияние иммуномодуляции на иммуногенную и протективную активность живой чумной вакцины. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2014; 91(6): 108–12.
 17. Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Каральник Б.В., Денисова Т.Г., Тугамбаев Т.И., Атшабар Б.Б. и др. Влияние бета-лейкина на показатели антигенспецифического иммунного ответа в модельных опытах иммунизации животных живой противочумной вакциной. *Цитокины и воспаление.* 2014; 13(1): 57–62.
 18. Ключева С.Н., Щуковская Т.Н. Влияние адьювантов нового поколения *in vitro* на продукцию цитокинов клетками крови вакцинированных против чумы лиц. *Российский иммунологический журнал.* 2015; 9(2): 201–8.
 19. Щуковская Т.Н., Курьелина А.Ф., Шавина Н.Ю., Бугоркова С.А. Влияние полиоксидония, Poly (I:C), даларгина на защитное действие вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ при экспериментальной чуме. *Российский иммунологический журнал.* 2020; 23(1): 41–50.
<https://doi.org/10.46235/1028-7221-005-IOP>
 20. Russell P.H., Mackay D.K.J., Ozdemir I. A rapid enzyme-linked semi-microwell assay for the enumeration of antibody-forming cells to viral and bacterial antigens in domestic animals. *J. Immunol. Meth.* 1987; 101(2): 229–33.
[https://doi.org/10.1016/0022-1759\(87\)90154-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(87)90154-2)
 21. Афиногенова В.П., Лукачев И.В., Костинов М.П. Иммунотерапия: механизм действия и клиническое применение иммунокорректирующих препаратов. *Лечащий врач.* 2010; (4): 9.
 22. Медунин Н.В. Коррекция развития иммунитета при вакцинации. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2010; (3): 9–10.
 23. Медунин Н.В., Покровский В.И. *Основы иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных болезней. Руководство для врачей.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2005.
 24. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Кутырев В.В., Смирнова Н.И., Щербакова С.А., Москвитина Э.А. и др. Актуальные проблемы эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и профилактики холеры в Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2016; 93(1): 89–101.
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-2016-1-89-101>
 25. Половинкина В.С., Марков Е.Ю. Иммуноадьювантные свойства мурамилдипептида. *Acta Biomedica Scientifica.* 2012; (1): 149–53.
 26. Pimenov E.V., Kozhukhov V.V., Strochkov Yu.I. Creating anthrax vaccines. *Priroda.* 2000; (10): 12–9. (in Russian)
 27. Lauw F.N., Simpson A.J., Prins J.M., van Deventer S.J., Chao-wagul W., White N.J., et al. The CXC chemokines gamma interferon (IFN-gamma) — inducible protein 10 and monokine induced by IFN-gamma are released during severe melioidosis. *Infect. Immun.* 2000; 68(7): 3888–93.
<https://doi.org/10.1128/iai.68.7.3888-3893.2000>
 28. Propst K.L., Troyer R.M., Kelliham L.M., Schweizer H.P., Dowet S.W. Immunotherapy markedly increases the effectiveness of antimicrobial therapy for treatment of *Burkholderia pseudomallei* infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(5): 1785–92.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01513-09>
 29. Khabarova I.A., Zhukova S.I., Rotov K.A., Snatnikov E.A., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Emergency prophylaxis of experimental melioidosis using synthetic immunomodulators and heterologous vaccines. *Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina.* 2018; 22(3): 340–50.
<https://doi.org/10.22363/2313-0245-2018-22-3-340-350> (in Russian)
 30. Zhukova S.I., Dem'yanova O.B., Alekseev V.V., Avrorova I.V., Khrapova N.P., Drefs N.M. Use of cytokines to enhancement of immunogenic and immunotropic attributes of *Burkholderia pseudomallei* antigens. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya.* 2011; (1): 43–8. (in Russian)
 31. Zhukova S.I., Dem'yanova O.B., Avrorova I.V., Zankovich A.A., Alekseev V.V., Khrapova N.P., et al. A method for increasing the immunogenicity of *B. pseudomallei* antigens in experimental melioidosis. 2013. Patent RF №2483752C1; 2013. (in Russian)
 32. Dem'yanova O.B., Zhukova S.I., Zankovich A.A., Khrapova N.P., Rotov K.A., Sintyurina N.N., et al. Application of cytokines and synthetic peptides for increase in immunogenicity of melioidosis antigens. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2014; (3): 83–5.
<https://doi.org/10.21055/0370-1069-2014-3-83-85> (in Russian)
 33. Bogacheva N.V., Okhapkina V.Yu., Pyatkova N.V., Fedotov A.K., Kucherenko A.S. Experimental research of the influence of immunomodulators on efficiency using of brucellosis living dry vaccine. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika.* 2016; 15(2): 84–92.
<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-2-84-92> (in Russian)
 34. Kravtsov A.L., Klyueva S.N., Bugorkova S.A. The impact of immunomodulators on reactivity the immune system cells in model vaccinal process against tularemia. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika.* 2016; 15(3): 94–101.
<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-3-94-101> (in Russian)
 35. Duckett N.S., Olmos S., Durrant D.M., Metzger D.W. Intranasal interleukin-12 treatment for protection against respiratory infection with the *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Infect. Immun.* 2005; 73(4): 2306–11.
<https://doi.org/10.1128/iai.73.4.2306-2311.2005>
 36. Pammit M.A., Budhavarapu V.N., Raulie E.K., Klose K.E., Teale J.M., Arulanandam B.P. Intranasal interleukin-12 treatment promotes antimicrobial clearance and survival in pulmonary *Francisella tularensis* subsp. *novicida* infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; 48(12): 4513–9.
<https://doi.org/10.1128/aac.48.12.4513-4519.2004>
 37. Kumar D., Kirimanjeswara G., Metzger D.W. Intranasal administration of an inactivated *Yersinia pestis* vaccine with interleukin-12 generates protective immunity against pneumonic plague. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(11): 1925–35.
<https://doi.org/10.1128/CVI.05117-11>
 38. Karal'nik B.V., Ponomareva T.S., Deryabin P.N., Denisova T.G., Mel'nikova N.N., Tugambaev T.I., et al. Effect of immune modulation on immunogenic and protective activity of

REFERENCES

- a live plague vaccine. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2014; 91(6): 108–12. (in Russian)
17. Ponomareva T.S., Deryabin P.N., Karal'nik B.V., Denisova T.G., Tugambaev T.I., Atshabar B.B., et al. Betaleukin influence on antigen-specific immune response indicators in model experiments of immunizing animals with live plague vaccine. *Tsitokiny i vospalenie*. 2014; 13(1): 57–62. (in Russian)
 18. Klyueva S.N., Shchukovskaya T.N. Adjuvants influence of new generation in vitro cytokine production by blood cells vaccinated against plague persons. *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal*. 2015; 9(2): 201–8. (in Russian) <https://doi.org/10.46235/1028-7221-005-IOP> (in Russian)
 19. Shchukovskaya T.N., Kurylina A.F., Shavina N.Yu., Bugorkova S.A. Influence of polyoxidonium, poly(I:C), dalargin on the protective efficacy of Yersinia pestis vaccine strain EV line NIEG in experimental plague. *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal*. 2020; 23(1): 41–50. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-005-IOP> (in Russian)
 20. Russell P.H., Mackay D.K.J., Ozdemir I. A rapid enzyme-linked semi-microwell assay for the enumeration of antibody-forming cells to viral and bacterial antigens in domestic animals. *J. Immunol. Meth.* 1987; 101(2): 229–33. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(87\)90154-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(87)90154-2)
 21. Afinogenova V.P., Lukachev I.V., Kostinov M.P. Immunotherapy: mechanism of action and clinical use of immunocorrecting drugs. *Lechashchiy vrach*. 2010; (4): 9. (in Russian)
 22. Medunitsyn N.V. Correction of the development of immunity during vaccination. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie*. 2010; (3): 9–10. (in Russian)
 23. Medunitsyn N.V., Pokrovskiy V.I. *Fundamentals of Immunoprophylaxis and Immunotherapy of Infectious Diseases. A Guide for Doctors [Osnovy immunoprofilaktiki i immunoterapii infektsionnykh bolezney. Rukovodstvo dlya vrachey]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2005. (in Russian)
 24. Onishchenko G.G., Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., Smirnova N.I., Shcherbakova S.A., Moskvitina E.A., et al. Actual problems of epidemiologic control, laboratory diagnostics and prophylaxis of cholera in Russian Federation. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2016; 93(1): 89–101. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2016-1-89-101> (in Russian)
 25. Polovinkina V.S., Markov E.Yu. Immunoadjuvant properties of muramyl dipeptide. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; (1): 149–53. (in Russian)

Информация об авторах

Филиппенко Анна Владимировна  — м.н.с. лаб. иммунологии особо опасных инфекций Ростовского-на-Дону противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, filippenko.annushka@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1103-4244>

Иванова Инна Александровна — к.б.н., в.н.с. с врио зав. лаб. иммунологии особо опасных инфекций Ростовского-на-Дону противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7068-4071>


Омельченко Наталья Дмитриевна — к.м.н., старший научный сотрудник лаб. иммунологии особо опасных инфекций Ростовского-на-Дону противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5208-7724>

Труфанова Анастасия Александровна — м.н.с. лаб. иммунологии особо опасных инфекций Ростовского-на-Дону противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4770-5994>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 09.08.2021;
принята к публикации 31.01.2022;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Anna V. Filippenko  — junior researcher, Laboratory of immunology of particularly dangerous infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, filippenko.annushka@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1103-4244>

Inna A. Ivanova — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher with Acting Head, Laboratory of immunology of particularly dangerous infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7068-4071>

Natalia D. Omelchenko — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of immunology of particularly dangerous infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5208-7724>

Anastasia A. Trufanova — junior researcher, Laboratory of immunology of particularly dangerous infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4770-5994>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 09.08.2021;
accepted for publication 31.01.2022;
published 28.02.2022

ОБЗОРЫ

Научный обзор

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-228>



Генетическое разнообразие вируса Эпштейна–Барр: современный взгляд на проблему

Попкова М.И.✉, Уткин О.В.

Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия

Аннотация

В целом характеристика генетического разнообразия вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) лежит в основе изучения патогенеза, целевой разработки методов лабораторной диагностики, вакцин, средств специфической терапии ассоциированных с ним заболеваний, совершенствования системы эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией, а также дальнейшей детализации таксономии и классификации вируса. Целью настоящего обзора является обобщение и анализ данных литературы, посвящённых изучению генетического разнообразия ВЭБ, для перспективного развития методологии молекулярно-биологических исследований в клинической практике и эпидемиологическом надзоре за ВЭБ-ассоциированными заболеваниями. Работа выполнена на основе анализа публикаций, размещённых в базах данных PubMed, Web of Science, Scopus, eLibrary. Отдельно сфокусировано внимание на изучении данного вопроса в России. Показано, что на протяжении нескольких десятилетий использовались подходы, основанные на анализе нуклеотидной и аминокислотной вариабельности отдельных генов ВЭБ или их участков. Однако единой, унифицированной системы, учитывающей все генетическое разнообразие ВЭБ, сильные и слабые стороны как более ранних, так и современных классификаций, не существует. Большинство публикаций посвящены изучению онкогена *LMP-1*. С развитием технологий полногеномного секвенирования возобновился поиск геновариантов и подтипов ВЭБ. На фоне динамичного развития данного направления выводы исследователей пока основываются на относительно небольшом количестве геномов, секвенированных с переменным качеством, проанализированных с применением разных биоинформационных стратегий, с неравнозначной выборкой с точки зрения географического происхождения; некоторые нозологические формы ВЭБ-ассоциированных заболеваний, географические области и этнические группы остаются неохарактеризованными. Развитие и оптимизация методических подходов на основе полногеномного секвенирования и секвенирования определённого набора генов будут способствовать расширению существующих представлений о генетическом разнообразии ВЭБ во всём мире, его связи с заболеваниями и, возможно, клиническими особенностями их течения, совершенствованию эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр, генетическое разнообразие, секвенирование, ВЭБ-1, ВЭБ-2, *LMP-1*, рак, инфекционный мононуклеоз, обзор

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

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

Для цитирования: Попкова М.И., Уткин О.В. Генетическое разнообразие вируса Эпштейна–Барр: современный взгляд на проблему. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):93–108. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-228>

Review article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-228>

Genetic diversity of the Epstein–Barr virus: a modern view of the problem

Mariia I. Popkova[✉], Oleg V. Utkin

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia

Abstract

In general, the characteristic of the genetic diversity of the Epstein-Barr virus (EBV) underlies the study of pathogenesis, targeted development of laboratory diagnostic methods, vaccines, specific therapy for associated diseases, improving the system of epidemiological surveillance of EBV infection, as well as further detailing the taxonomy and virus classification. The purpose of this review is to summarize and analyze the literature data on the genetic diversity of EBV for the prospective development of the methodology of molecular research in clinical practice and epidemiological surveillance of EBV-associated diseases. The work was carried out based on an analysis of publications in the PubMed, Web of Science, Scopus, eLibrary databases. Special attention was focused on the studies in Russia. It has been shown that approaches based on the analysis of nucleotide and amino acid variability of individual EBV genes or their regions have been used for several decades. However, there is no single, unified system that takes into account the entire genetic diversity of EBV, and the strengths and weaknesses of both earlier and modern classifications. Most publications are devoted to the study of the *LMP-1* oncogene. With the development of whole genome sequencing technologies, the search for genovariants and subtypes of EBV has resumed. It is demonstrated that despite the dynamic development of this area, the conclusions of researchers are still based on a relatively small number of genomes sequenced with variable quality, analyzed using different bioinformatic strategies, with an unequal sample in terms of geographical origin. Moreover, some nosological forms of EBV-associated diseases, geographical areas and ethnic groups remain uncharacterized. The development and optimization of methodological approaches based on whole genome sequencing and sequencing of a specific set of genes will contribute to the expansion of existing ideas about the genetic diversity of EBV throughout the world, its relationship with diseases and, possibly, the clinical features of their course, and the improvement of epidemiological surveillance of EBV infection.

Keywords: Epstein–Barr virus, genetic diversity, sequencing, EBV-1, EBV-2, LMP-1, cancer, infectious mononucleosis, review

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

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

For citation: Popkova M.I., Utkin O.V. Genetic diversity of the Epstein–Barr virus: a modern view of the problem. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):93–108.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-228>

Введение

В 1964 г. М. Epstein и Y. Barr визуализировали вирусные частицы в ходе электронной микроскопии клеток культуры лимфомы Беркитта (ЛБ), что явилось научным основанием к открытию первого онковируса человека, названного в честь учёных вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) [1]. В 1968 г. была доказана этиологическая роль ВЭБ при инфекционном мононуклеозе (ИМ) [2]. В настоящее время установлена повсеместная распространённость этого вируса, серопозитивными являются более 90% взрослого населения во всём мире. Существенно расширился спектр ассоциированных с ним заболеваний, включая злокачественные новообразования лимфоидного и эпителиального происхождения, обсуждается связь ВЭБ с рассеянным склерозом и

системной красной волчанкой. Ежегодно регистрируемое число новых случаев 4 видов рака, связанных с ВЭБ, возросло до 265 тыс. [3]. Обращает внимание выраженная неравномерность распространения отдельных нозологических форм в разных географических регионах мира: наибольшие показатели заболеваемости эндемичной ЛБ регистрируются среди жителей экваториальной Африки, раком носоглотки (РНГ) в Южном Китае и Юго-Восточной Азии, лимфомой Ходжкина в Африке и Южной Америке, раком желудка (РЖ) в Северной и Южной Америке, Т/НК-клеточными лимфомами в Восточной Азии, включая Японию и Корею, а ИМ в западных странах [4, 5]. Все вышеперечисленное способствовало росту интереса к изучению возможных ассоциаций генетических вариаций ВЭБ с конкрет-

ными заболеваниями с акцентом на злокачественные новообразования [6].

Первая геномная последовательность ВЭБ была опубликована в 1984 г., что явилось отправной точкой для последующего развития отдельного направления исследований этого вируса, касающихся идентификации его штаммов [6]. На протяжении нескольких десятилетий изучения данного вопроса сформировался подход, заключающийся в анализе нуклеотидных и аминокислотных последовательностей отдельных генов/белков-мишеней ВЭБ, предложены многочисленные варианты классификации. Следует отметить, что до 2013 г. геномные последовательности ВЭБ, доступные в GenBank, характеризовали менее чем 10 штаммов [5]. Развитие технологий секвенирования привело к тому, что после 2014 г. число доступных к изучению полных геномов резко возросло, достигнув к настоящему времени более 1000 [7]. Недавние исследования с высокой степенью доказательности продемонстрировали существование определённых штаммов или подтипов ВЭБ высокого риска, связанных с развитием РНГ, в эндемичном регионе на юге Китая [8]. В современных работах накопленный опыт изучения целевых вирусных генов не утратил своей значимости и продолжает применяться как самостоятельный подход, в том числе при сравнительном анализе геномов ВЭБ.

В России встречается широкий спектр ВЭБ-ассоциированных патологий, но они не несут эпидемический характер [9]. При этом из перечня заболеваний, связанных с ВЭБ, официальной статистической отчётности подлежит только ИМ, что существенно затрудняет объективную оценку их структуры, уровня заболеваемости и распространённости. За последнее десятилетие ИМ постоянно входит в рейтинг инфекционных болезней, представляющих наибольшую экономическую значимость в России (в 2020 г. экономический ущерб составил 2 299 817,4 тыс. руб.), отмечается тенденция к росту заболеваемости [10]. Между тем вопросу изучения генетической гетерогенности ВЭБ в отечественной литературе посвящено небольшое количество публикаций [9, 11–14]. В России данное направление исследований сконцентрировалось на изучении онкогена, кодирующего латентный мембранный белок 1 (*LMP-1*) ВЭБ¹. Для характеристики генетического разнообразия ВЭБ используется преимущественно одна из нескольких классификаций, в основе которых лежит структурно-функциональный полиморфизм данного гена. Работы, посвящённые полногеномному секвенированию российских изолятов ВЭБ, в отечественных изданиях до сих пор не представлены.

В целом характеристика генетического разнообразия ВЭБ лежит в основе изучения патогенеза, целевой разработки методов лабораторной диагностики, вакцин, средств специфической терапии широкого спектра ассоциированных с ним заболеваний, совершенствования системы эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией, а также дальнейшей детализации таксономии и классификации вируса.

Целью настоящего обзора являются обобщение и анализ данных литературы, посвящённых изучению генетического разнообразия ВЭБ, для перспективного развития методологии молекулярно-биологических исследований в клинической практике и эпидемиологическом надзоре за ВЭБ-ассоциированными заболеваниями.

Работа выполнена на основе анализа публикаций (статьи в журналах), размещённых в электронных базах данных PubMed, Web of Science, Scopus, eLibrary. Глубина поиска составила 50 лет (1972–2021 гг.). Поиск публикаций проводился по следующим ключевым словам: «генетическое разнообразие ВЭБ», «вариабельность ВЭБ», «полиморфизм ВЭБ», «штаммы ВЭБ», «типирование ВЭБ», «секвенирование ВЭБ», «генотипы ВЭБ», «геноварианты ВЭБ», «ВЭБ1», «ВЭБ-1», «ВЭБ2», «ВЭБ-2», «LMP1 вируса Эпштейна–Барр», «LMP-1 вируса Эпштейна–Барр», «ДНК ВЭБ», «классификации ВЭБ», «ВЭБ-ассоциированный рак», «инфекционный мононуклеоз». Объем исследования включал 3980 работ, в том числе за последние 5 лет — 530. Российские публикации в их числе составили 29 и 15 соответственно.

Основная часть

Согласно современной таксономии вирусов, ВЭБ относится к семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Gammaherpesvirinae*, роду *Lymphocryptoviruses*, виду *Human gammaherpesvirus 4 (HHV4)*. Геном ВЭБ представлен линейной двухцепочечной ДНК размером около 172 т.п.н., имеет более 80 открытых рамок считывания, содержит четыре основных внутренних повтора (от IR1 до IR4) и вариабельное число концевых повторов (TR). Девять латентных генов, включая гены ядерного антигена (*EBNA-1*, *EBNA-2*, *EBNA-3A*, *EBNA-3B*, *EBNA-3C*, *EBNA-LP*) и латентного мембранного белка (*LMP-1*, *LMP-2A*, *LMP-2B*), расположены в уникальных областях генома (U). Другие открытые рамки считывания кодируют белки капсида, факторы транскрипции, а также литические белки (*BZLF1*, *BHLF1*, *BHRF1*, *BALF1*, *BNLF2a*, *BCRF1* и др.). В геноме вируса закодированы такие малые РНК, как *EBER1* и *EBER2*, а также микроРНК *BART* и *BHRF1*. В фазе латенции геном ВЭБ существует в виде кольцевых эписомов внутри ядра инфицированной клетки [7]. Изучается вопрос о вирусной интеграции полноразмерных геномов ВЭБ, а также ДНК-фрагментов в ВЭБ-положительных ЛБ, РНГ и РЖ [16].

¹ Сокращённое обозначение генов ВЭБ в обзоре приведено согласно данным GenBank. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Human+gammaherpesvirus+4>

Несмотря на то, что общее сходство нуклеотидных последовательностей между геномами ВЭБ варьирует от 97,45 до 99,74% [17], для отдельных генов установлен выраженный полиморфизм. Так, гены латенции ВЭБ обладают большим разнообразием, чем другие элементы генома [18]. Генетическая вариабельность штаммов ВЭБ обусловлена особенностями жизненного цикла вируса в лимфоцитах. Когда ВЭБ-инфицированный лимфоцит проходит через зародышевый центр лимфоузла, считающийся высокомутационной средой, мутационный процесс вируса повышается. В процессе репликации ВЭБ возникают ошибки, что приводит к формированию большого генетического разнообразия вируса у инфицированных лиц [19]. По имеющимся сведениям, общий уровень мутаций генома ВЭБ составляет около 1,27% [17]. При этом L. Zanella и соавт. свидетельствуют о том, что рекомбинации происходят в 2,5 раза чаще, чем мутации, и играют решающую роль в диверсификации ВЭБ [20]. Кроме того, коэволюция геномов вируса и хозяина, воздействие средовых факторов формируют общегеномные паттерны генетического разнообразия ВЭБ [21].

Первая полная геномная последовательность ВЭБ (прототипный штамм B95-8, изолированный от пациента с ИМ из Северной Америки; GenBank: V01555) была получена R. Вагг и соавт. в 1984 г. [22]. Использование секвенирования по Сэнгеру позволило расширить знания о генетическом разнообразии ВЭБ. Однако в последующий 30-летний период были полностью секвенированы геномы очень ограниченного количества штаммов ВЭБ, полученных из разных источников и географических регионов: *GD1* из слюны пациента с РНГ; *GD2*, *M81*, *HKNPC1* из биоптатов РНГ; *S666-1* из клеточной линии РНГ; *K4123-Mi* и *K4413-Mi* из спонтанных лимфобластоидных клеточных линий, африканский *Mutu* из ЛБ, японский *Akata* из клеточной линии ЛБ, *AG876* из ЛБ в центральной Африке, а также ВЭБ дикого типа (*EBVwt*), который является современным референсным штаммом ВЭБ (RefSeq *HHV4*) (GenBank: NC_007605) [5, 19].

Основное направление исследований генетического разнообразия ВЭБ в этот период сосредоточилось на секвенировании определённых генов вируса или их фрагментов (подход на основе изучения гена-кандидата). В результате были предложены несколько классификаций, большая часть из которых находит применение в некоторых современных работах. В этой части литературного обзора материалы будут изложены с учётом их хронологической последовательности, отражающей эволюцию представлений о генетическом разнообразии ВЭБ в мире.

Основные типы ВЭБ

Исторически первой и общепринятой классификацией является деление ВЭБ на два основных

типа — тип 1 и тип 2 (или тип А и тип В соответственно). Первоначально T. Dambaugh и соавт. установили значимый уровень различий в длине открытой рамки считывания домена U2 и белка EBNA-2 между штаммами B95-8 (тип 1) и AG876 (тип 2) [23]. Известно, что в гене *EBNA-2* степень идентичности между двумя типами вируса по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям составляет 70 и 54% соответственно [2]. Дальнейшие исследования показали, что различия между изолятами ВЭБ-1 (B95-8-подобные) и ВЭБ-2 (AG876-подобные) чётко прослеживаются не только для гена *EBNA-2*, но и для семейства белков EBNA-3, хотя и с меньшей степенью выраженности. При этом гены *EBNA-3A*, *EBNA-3B* и *EBNA-3C* имеют сходство нуклеотидных и аминокислотных последовательностей на 90 и 84%, 88 и 80%, 81 и 72% соответственно [24]. Более современные работы подтверждают чёткое разделение популяции ВЭБ на два основных типа [15, 18, 19, 25]. При этом ВЭБ-2 характеризуется меньшей степенью разнообразия по сравнению с ВЭБ-1. Внутри каждого типа наибольшая дивергенция отмечается для генов *EBNA-1* и *LMP-1* [25]. Для каждого типа вируса существуют два эталонных генома: ВЭБ-1 (GenBank: NC_007605.1) и ВЭБ-2 (GenBank: NC_009334.1) [26].

Оба типа ВЭБ встречаются повсеместно, при этом их распределение имеет географические особенности. ВЭБ-1 является основным типом, распространённым во всём мире, преобладает в популяции жителей Европы, Америки, Китая и Южной Азии. Темпы изучения ВЭБ-2 отстают, поскольку инфицированные этим типом вируса люди встречаются реже, в основном в регионе Африки к югу от Сахары и в Папуа — Новой Гвинее [25, 27]. Небольшой процент представителей европеоидной расы также инфицированы ВЭБ-2 [28]. В России только начинают появляться первые публикации по изучению распространённости основных типов ВЭБ [12, 29].

Различия отмечаются не только в географическом распространении типов вируса, но также и среди отдельных социальных групп. Например, в когорте гомосексуальных мужчин в западных странах по сравнению с общей популяцией наблюдается более высокая частота инфицирования ВЭБ-2, в частности, в группах ВИЧ-инфицированных индивидов. Считается, что пациенты с иммунодефицитными состояниями более восприимчивы к инфицированию обоими типами ВЭБ [30].

Основное фенотипическое различие между двумя типами вируса заключается в том, что ВЭБ-1 трансформирует В-лимфоциты человека более эффективно, чем ВЭБ-2 [31]. При этом M.-H. Tsai и соавт. в экспериментах *in vitro* установили, что разные штаммы одного типа (ВЭБ-1) обладают выраженными отличиями в трансформирующем потенциале

и клеточном тропизме, возможно, предопределяя развитие разных типов опухолей [32]. А недавние сообщения о том, что ВЭБ-2 инфицирует Т-клетки как в культуре, так и *in vivo* (например, у кенийских детей), определяют необходимость дальнейшего развития представлений о биологическом значении основных типов ВЭБ, в том числе с позиций оценки геномных вариаций вируса [28].

Многие исследовательские группы используют классификацию ВЭБ, основанную на выделении двух базовых генотипов — ВЭБ-1 и ВЭБ-2. Вместе с тем доказательств связи генотипов с развитием различных заболеваний недостаточно. ВЭБ-1 чаще вызывает ИМ, чем ВЭБ-2 [29, 33]. Особенности клинических проявлений ИМ, варианты его течения при инфицировании разными штаммами изучены мало. Хотя генотип ВЭБ-2 превалирует в том же регионе Африки, что и эндемичная ЛБ, результаты недавних исследований свидетельствуют о значительно большем распространении среди этих пациентов ВЭБ-1 (74,5%) [25].

Классификация ВЭБ, основанная только на типах вируса, не позволяет полностью учитывать все его разнообразие. Данный факт обусловлен охарактеризованными событиями межтиповой и внутритиповой рекомбинации ВЭБ, что затрудняет использование относительно простых классификаций, основанных на полиморфизмах одного гена [19, 25, 34, 35].

RFLP-варианты

Вторая классификация ВЭБ была разработана на основе анализа полиморфизмов длин рестрикционных фрагментов (RFLP) эндонуклеазами рестрикции *Bam*HI и *Xho*I [4]. Отметим, что в современных работах сохраняется интерес к изучению только полиморфизмов фрагментов *Bam*HI-I [4] и сайта рестрикции *Xho*I [4, 36] как потенциальных биомаркеров РНГ и РЖ. Отсутствие сайта рестрикции *Xho*I (вариант *Xho*I) является наиболее распространённым полиморфизмом при РНГ в эндемичных регионах Азии (более 80% случаев) [4, 36]. В то же время А. Corvalán и соавт. (2019) обнаружили рекомбинантный вариант “i”/*Xho*I+, характерный для ВЭБ-ассоциированного РЖ на американском континенте [4].

Другие наиболее известные на сегодняшний день классификации основаны на детальном изучении нуклеотидных последовательностей ВЭБ в генах *LMP-1*, *EBNA-1*, *BZLF1*. Исследовательский интерес сосредоточен на них потому, что *LMP-1* характеризуется структурно-функциональной полиморфностью и важной ролью в онкогенезе, *EBNA-1* необходим для поддержания ВЭБ в латентной форме (ген экспрессируется во всех опухолях, ассоциированных с ВЭБ), а *BZLF1* играет роль в переходе от латентной к литической фазе ВЭБ-инфекции.

LMP-1-варианты

Большинство исследований генетической изменчивости ВЭБ сосредоточено на изучении структуры и роли вирусного онкогена *LMP-1*, который кодирует одноимённый белок и отличается от большинства других генов ВЭБ наибольшим полиморфизмом [27]. Интерес к изучению геновариантов *LMP-1* резко возрос после того, как была продемонстрирована взаимосвязь между ними и развитием ряда онкологических заболеваний. В настоящее время известно 7 классификаций геновариантов *LMP-1* ВЭБ [37]. В данном обзоре мы сосредоточимся на изложении лишь некоторых из них в хронологической последовательности.

L.F. Hu и соавт. (1991) описали характерные особенности гена *LMP-1* CAO [38]. CAO — изолят ВЭБ, выделенный из клеток назофарингеальной карциномы 54-летнего пациента мужского пола из района Шанхай в Китае. Описанная структура белка *LMP-1* CAO (404 а.к.) отличается от прототипного B95-8 (386 а.к.), что определяется вставкой 3 дополнительных тандемных повторов протяжённостью 11 аминокислот (33 п.н.), двумя делециями в 5 и 10 аминокислот в С-концевой области гена, а также множественными аминокислотными заменами и отсутствием сайта рестрикции *Xho*I в N-концевой области. В последующие годы изучением потенциально онкогенных CAO-подобных геновариантов *LMP-1* занимались разные исследовательские группы. При этом редко использовался весь авторский набор генетических признаков, характеризующих вариант CAO. Как правило, исследователи ограничивались обнаружением характерной делеции в 30 п.н. (10 а.к.). По оценкам некоторых исследователей, в Азии полиморфизм *Xho*I- имеет значительно более высокую степень ассоциации с РНГ по сравнению с делетированным вариантом *LMP-1* (отношение риска равно 14,17 и 3,53 соответственно) [36].

Научно-практический интерес представляло изучение выраженности полиморфизмов гена *LMP-1* не только в опухолевых изолятах ВЭБ, но и в изолятах ВЭБ дикого типа, полученных от здоровых вирусоносителей в разных географических регионах. В частности, К. Sandvej и соавт. (1997), исследуя европейские изоляты ВЭБ здоровых вирусоносителей, с помощью секвенирования гена *LMP-1* выделили 4 группы: А, В, С, D [39]. Группа А представлена изолятами, аналогичными референсному штамму B95-8, в группе С изоляты характеризовались наличием CAO-подобной делеции в 30 п.н. на С-конце, а в группе D отсутствовал сайт рестрикции *Xho*I на N-конце. Конфигурация повторяющейся области гена варьировала независимо от конкретной группы и содержала 3–7 тандемных повторов из 33 п.н. Данная классификация используется в исследовательских целях [6, 11, 25, 40].

Наиболее популярная классификация R.H. Edwards и соавт. (1999) основана на анализе полиморфизмов в С-концевой области гена *LMP-1* [41]. Были сгруппированы 7 штаммов, получивших географические наименования в соответствии с происхождением образцов: *B95-8*, *China1*, *China2*, *China3*, *Med* (Mediterranean), *Alaskan* и *NC* (Northern Carolina), которые различаются по 7 локусам в С-концевой области гена *LMP-1* и характеризуются чёткими аминокислотными сигнатурами относительно прототипного штамма ВЭБ в положениях 229, 306, 312, 322, 334, 338 и 344. При этом CAO-подобная делеция 10 а.к. присутствовала в штаммах *China1*, *China3* и *Med*, а *XhoI* — в штаммах *China1*, *China2*, *Alaskan* и *NC*. При сопоставлении полиморфизмов *LMP-1* с основными типами ВЭБ корреляция отсутствовала, хотя *China1* чаще принадлежал к ВЭБ-1, а *China2* и *Alaskan* — к ВЭБ-2 [41]. Отметим, что вариант *B95-8 LMP-1* имел самую высокую связь с ВЭБ-2, а *Med* или *NC* — самую низкую [19, 28].

Поскольку данная классификация разрабатывалась для штаммов ВЭБ, циркулирующих среди населения ограниченного числа территорий, возникает вопрос о корректности её применения для анализа *LMP-1* в других географических регионах. Показано, что некоторые штаммы более распространены в определённых популяциях. В азиатских выборках в 63% был выявлен штамм *China1*, в 12% — *China2*, в 3% — *China3* и в 17% — *B95-8*. Среди средиземноморских и африканских выборок в 90% были обнаружены штаммы *Med* и в 10% — *B95-8*. В пробах из США было выявлено 23% штаммов *China1*, 12% — *China2*, 31% — *Med*, 4% — *Alaskan*, 8% — *NC* и 23% — *B95-8* [41]. При этом чёткой корреляции с определённым заболеванием или географическим регионом не установлено [36].

В современный период в дополнение к описанной классификации R.H. Edwards и соавт. [41] представлены новые варианты онкогена *LMP-1*, например, *Southeast Asia 1* и *Southeast Asia 2* (*SEA1* и *SEA2*), выделенные в Тайланде [27], или *Argentina* из Аргентины [7]. Российскими учёными были обнаружены *LMP-1* «вне варианта» с неизвестным трансформирующим потенциалом [9, 13], в том числе уникальный среди изолятов этнических татар Поволжья, названного авторами *LMP-1-Tat^K* [12, 13].

В России за последние 20 лет проводились исследования структурно-функционального полиморфизма онкогена *LMP-1* ВЭБ в контексте изучения его особенностей в неэндемичном по ВЭБ-ассоциированным онкологическим заболеваниям регионе мира. Отметим, что основная часть полученных к настоящему времени результатов российских исследователей была сгенерирована на основе применения методических подходов, включающих секвенирование по Сэнгеру главным образом С-концевой области гена *LMP-1* с последующей оценкой его

геновариантов по классификации R.H. Edwards и соавт. [41]. В целом можно выделить несколько основных направлений исследований: сравнительный молекулярно-генетический анализ *LMP-1* ВЭБ среди здорового населения и в группах пациентов с онкологией, распространённость геновариантов *LMP-1* в разных этнических группах и территориях страны, изучение трансформирующей активности *LMP-1*.

В результате анализа различных клинических образцов (опухолевая ткань, смывы из полости рта, лейкоциты крови) достаточно частым событием было несовпадение вариантов *LMP-1* [9]. При ВЭБ-ассоциированном РНГ, РЖ, лимфоме Ходжкина, неходжкинских лимфомах, а также ИМ среди представителей разных регионов России образцы *LMP-1* были отнесены к вариантам *B95-8*, *China1*, *Med+* и *Med-* (содержащим и не содержащим делецию 10 а.к. соответственно), а также *NC* [9, 14]. Все российские авторы сходятся во мнении, что специфический вариант *LMP-1* при ВЭБ-ассоциированной патологии отсутствует. Однако на отдельных географических территориях, например, среди представителей Северо-Кавказского федерального округа, делетированные *LMP-1* варианты *China1* и *Med+* встречались гораздо чаще, а уровень гуморального ответа к ВЭБ коррелировал с повышенной заболеваемостью в этой группе опухолями носоглотки, включая РНГ [14]. Поэтому в масштабах России остаётся открытым вопрос о возможности выявления территорий риска и групп риска разных ВЭБ-ассоциированных заболеваний. Учитывая, что российские работы основаны на анализе небольших выборок (10–28 человек в каждой группе сравнения), дальнейшие исследования необходимо планировать с учётом большего числа наблюдений и клинических образцов, полученных из различных географических и климатических регионов России.

Результаты исследований среди здорового населения свидетельствуют о том, что частота выявления геновариантов *LMP-1* в разных регионах и этнических группах на территории России существенно различается. Наиболее высокий процент выявления низкодивергентного и низкотуморогенного варианта *LMP-1 B95-8* зарегистрирован среди населения европейской части России (78,9%), в то время как среди жителей Дальнего Востока (аборигены и иммигранты Хабаровского края) доля *LMP-1 B95-8* была ниже (26,2 и 25,0% соответственно) [11]. В другой работе показаны этнические различия: процентное содержание варианта *B95-8/A* среди казанских татар значительно ниже, чем у московских славян (29,3% против 82,5%) [13]. Штаммы *Med+* и *Med-* встречались среди изучаемых групп населения примерно с одинаковой частотой, за исключением низкой превалентности среди населения европейской части России. Важной характеристикой является обнаружение CAO-подобного

штамма *China1* среди здоровых лиц в российской популяции [9, 13]. Штамм *NC* на низком уровне детектировался у населения европейской части России [11]. Варианты *LMP-1 China2*, *China3* и *Alaskan* как у лиц с онкологическими заболеваниями, так и среди здорового населения в России отсутствовали [9, 11, 14]. Выявленные в российской популяции варианты *LMP-1* «вне варианта», а также ранее не описанные точечные мутации в этом гене (*D210E*, *G352S*, *W39C*, *L93V*, *A96T*, *I122L*, *S329M*) до сих пор остаются фенотипически не охарактеризованными.

Другая группа исследователей под руководством D.M. Walling, также изучая естественную вариацию С-концевой области гена *LMP-1*, разработала иной подход к идентификации генотипов ВЭБ *in vivo*, предположив, что следует исключать повторяющуюся область размером 33 п.н. (а.к. в позиции 250–298) [42]. В этом исследовании генотипы ВЭБ были определены как «штаммы» по комбинации одновременно присутствующих в гене *LMP-1* последовательностей, расположенных ниже (downstream) и выше (upstream) повторяющейся тандемной области. Всего были определены 22 паттерна аминокислотных последовательностей: 12 вариантов между аминокислотами 299–379 (паттерны *B95-8*, *I*, *2a*, *2b*, *2c*, *3*, *4*, *5*, *6*, *7*, *8*, *9*) и 10 вариантов между аминокислотами 196–249 (паттерны *B95-8*, *A*, *B*, *C*, *D*, *E*, *F1*, *F2*, *G*, *H*). В последующих работах авторы расширили данную классификацию до 25 паттернов. Однако при эпидемиологическом анализе географических особенностей распределения или однозначной ассоциации между установленным паттерном последовательности и каким-либо заболеванием выявлено не было.

H. Lei и соавт. (2015) обнаружили 23 новых вариации нуклеотидной последовательности в промоторе и гене *LMP-1*, обуславливающих изменения в составе аминокислот данного белка у пациентов с ЛБ [43]. Последующий анализ этой области генома ВЭБ позволил установить 4 характерных паттерна нуклеотидной последовательности, условно обозначенных от *A* до *D*. Распределение ЛБ при этом составило 48, 8, 24 и 20% для паттернов *A*, *B*, *C* и *D* соответственно. РНГ ассоциировался с паттерном *B*, а эталонный ВЭБwt — с паттерном *D*.

В клиническом и эпидемиологическом аспектах представляет интерес вопрос коинфицирования разными геновариантами *LMP-1*. Установлено, что 2 и более таких вариантов могут детектироваться у одного индивида [9, 28, 41, 42, 44]. Например, три штамма — *China1*, *B95-8* и *Med* — были обнаружены у здорового волонтера [41]. Детальный анализ показал, что в разных субстратах одного и того же человека (кровь, слюна, образцы биопсии опухолей) могут быть идентифицированы разные геноварианты [9, 28, 44]. Со временем возможна смена геновариантов в одном и том же субстрате [45]. Также

известно, что при культивировании В-клеток крови *in vitro* от лиц, инфицированных несколькими штаммами вируса, только один из них, обладающий выраженным трансформирующим потенциалом, становится доминирующим наряду с элиминацией других [40]. В настоящее время остаётся неизвестным, как иммунная система ранее инфицированного пациента обеспечивает защиту от новых геновариантов ВЭБ. Эти знания могут серьёзно повлиять на перспективы разработки вакцины против ВЭБ, отсутствующей в настоящее время.

EBNA-1-варианты

Наиболее известной и часто используемой является классификация *EBNA-1*-вариантов ВЭБ на основе полиморфизмов в С-концевой области гена (на аминокислотном уровне): два штамма-прототипа *P* либо с остатком аланина (*P-ala*), либо треонина (*P-thr*) в положении 487 и три варианта с остатком валина (*V-val*), лейцина (*V-leu*) или пролина (*V-pro*) [18, 46, 47]. При этом прослеживалась связь подтипа *P-thr* и *V-leu* с эндемичными и неэндемичными формами ЛБ по сравнению с нормой [28, 46], а *V-val* представляет собой доминирующий азиатский подтип *EBNA-1*, как при РНГ и РЖ, так и в общей популяции [18, 46, 47]. Комплексный подход к оценке N- и С-концевых полиморфизмов *EBNA-1* подтипов описан в серии работ S. Correia и соавт. (2017, 2018) [28, 35]. Новая классификация описывает две модификации в С-концевом участке гена, которые определяются 5 аминокислотами (либо *PSMVT* в эталонном штамме либо *QCIGP* в других штаммах). *QCIGP* характеризуется положением аминокислот *Q476*, *C492*, *I563*, *G574* и *P585* [28]. Аналогично в N-конце объединены *QEA* (*E16Q*, *G18E*, *T85A*). Функциональное значение подтипов остаётся неизученным [35].

BZLF1-варианты

Среди литических генов вируса немедленно-ранний ген *BZLF1* характеризуется значительным полиморфизмом в области промотора (*Zp*) и кодирующего региона. Идентифицированы несколько вариантов *Zp*: *Zp-P* (прототип *B95-8*), *Zp-V3*, *Zp-V4*, а также *Zp-PV* [48]. *Zp-P* чаще выявлялся в Северной и Южной Америке, а также в Европе. В Китае варианты *Zp-P* и *Zp-V3* распределялись с одинаковой частотой, при этом *Zp-V3* чаще детектировался у онкологических больных по сравнению со здоровым населением. Отмечена ассоциация *Zp-V3* с неходжкинскими лимфомами у пациентов со СПИДом, а также с ЛБ [25]. Во всех случаях вариант *Zp-V3* был представлен исключительно штаммами ВЭБ-2 [25, 28, 49]. Сайт связывания для клеточного фактора транскрипции (*NFATc1*) в варианте *Zp-V3* (но не *Zp-P*) усиливает литическую реактивацию вируса [49, 50].

BARF1-варианты

BARF1 участвует в развитии ВЭБ-ассоциированных злокачественных новообразований. Выделяют два типа *BARF1*: *B95-8* и *V29A*, среди которых известны и подтипы. Один из двух подтипов *B95-8* (*B95-8^p*) преобладал в Северном Китае, Европе, Америке и Австралии, а подтип *B95-8^{165545c}* был обнаружен только в Азии, продемонстрировав высокую частоту встречаемости (81,2%) при РНГ в Южном Китае [51].

BART-варианты

В области *BART* описан кластер, кодирующий 22 предшественника микроРНК, из которых в дальнейшем формируется пул из 40 зрелых молекул. Хорошо известно, что эти вирусные микроРНК модулируют воспалительный ответ, способствуют уходу ВЭБ из-под иммунного надзора, поддерживая латентную инфекцию, стимулируют канцерогенез. Следует отметить, что при разных формах эпителиального рака, ассоциированных с ВЭБ, суммарный уровень экспрессии микроРНК *BART* выше, чем в линиях лимфобластоидных клеток и при ЛБ [4, 52]. Выявленные однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в области *BART* приводят к гетерогенной экспрессии некоторых микроРНК. Хотя индивидуальные различия в экспрессии составляют всего 1,5–2,0 раза, их совокупный эффект может быть больше [28, 35, 52].

EBERs-варианты

В ранних публикациях встречается информация о классификации ВЭБ на основе анализа генов малых РНК 1 и 2 (*EBER1* и *EBER2*) [53], которая не получила дальнейшего развития. Однако результаты работы К.Ф. Нуи и соавт. открывают новые перспективы их изучения. Авторы определили варианты ВЭБ с высоким риском развития РНГ [15]. Отметим, что *EBER1* и *EBER2* экспрессируются при всех ВЭБ-ассоциированных злокачественных новообразованиях.

Из анализа данных литературы следует, что было предпринято много попыток классифицировать ВЭБ. Однако эти классификации часто не соответствовали друг другу. Большинство из них основывались на характеристике отдельного гена для сортировки штаммов, но не принимали во внимание геномную изменчивость и многочисленные рекомбинантные области, присутствующие в геноме ВЭБ.

С 2014 г. началась эра полногеномного секвенирования в изучении генетического разнообразия ВЭБ. В последние годы значительно возросло число публикаций по секвенированию полного генома ВЭБ [7]. Развитие технологий обогащения ДНК позволило существенно расширить возможности анализа не только линий лимфобластоидных

клеток [19, 34, 54], но и первичных образцов биоматериала (биоптаты опухолевых тканей, кровь, смывы ротовой полости, ротоглотки), полученного от лиц с ВЭБ-ассоциированными заболеваниями и здоровых вирусоносителей [8, 15, 18, 19, 35]. Полученные разными исследователями новые последовательности генома ВЭБ существенно расширили представления о глобальной генетической изменчивости вируса. Так, в контексте всего генома ВЭБ при множественном выравнивании, например, только 18 последовательностей генома ВЭБ из образцов биопсии РНГ могут содержать в общей сложности 20 570 вариаций, включая 20 328 SNP, 88 вставок и 154 делеции, по сравнению с эталонным геномом вируса [55].

Развитие методических подходов на основе полногеномного секвенирования позволило определить главные паттерны генетического разнообразия ВЭБ. Первым паттерном является классификация на два основных типа — ВЭБ-1 и ВЭБ-2, которая определяется исключительно вариативностью генов *EBNA-2* и *EBNA-3* [7, 8, 18, 19, 28, 34, 35, 56]. Вторым паттерном — географический. При этом глобальная популяция ВЭБ (за исключением одной работы [21]) разделяется на 2 клады — азиатские и неазиатские [7, 8, 18, 19, 28, 35].

Дальнейший анализ продемонстрировал сложную структуру популяции ВЭБ в зависимости от методического подхода, применяемого авторами. В опубликованных работах использовался разный набор последовательностей генома ВЭБ, представленных в GenBank. При этом большинство исследователей исключали из анализа последовательности, соответствующие ВЭБ-2, в связи с их небольшой представленностью. Кроме того, одни авторы отмечали высокую степень рекомбинации и крайние различия в плотности SNP между связанными с латентностью и структурой вируса генами, что затрудняло интерпретацию филогенетических деревьев больших областей генома и препятствовало точной идентификации происхождения штаммов [19, 20, 34], а другие находили ограниченное искажающее влияние рекомбинации на результаты исследований [7, 18].

В результате были представлены разные модели географической изменчивости ВЭБ. Например, М. Chiara и соавт. описали 10 географических популяций, из них 8 так называемых «чистых» популяций, т.е. с низкой (<10%) вероятностью смешивания [54]. Обращает внимание новая классификация L. Zanella и соавт., названная ВЭБ-филопопуляцией (EBV-p) [20]. Авторы применили новый подход, исключавший из анализа рекомбинантные области, что позволило охарактеризовать 12 популяций вируса и установить не только географические взаимосвязи, но и ассоциации с некоторыми заболеваниями. F. Wegner и соавт. охарактеризовали

20 субпопуляций ВЭБ [21]. М. Telford и соавт. представили классификацию географического распространения ВЭБ, основанную не на традиционном анализе полного генома [20, 28, 34, 54], а на альтернативном подходе, включавшем анализ 13 отдельных генов в составе 353 геномов [18]. Авторы провели анализ в двух географических разрезах: страна происхождения и более широкие области, названные «континенты» (например, Северная Африка, Африка к югу от Сахары, Европа, Восточная Азия и др.). На наш взгляд, наиболее структурированным и обоснованным является представление географической изменчивости ВЭБ в работе А.С. Blazquez и соавт. [7].

Кроме того, в контексте всего генома ВЭБ (ВЭБ-1) были идентифицированы четыре информативных кодирующих региона, которые имели значе-

ние для разделения азиатских и неазиатских клад [7]. В свою очередь, в работе R. Bridges и соавт. с использованием метода главных компонент были выявлены основные наборы SNP относительно эталонного генома ВЭБ, характерные для определённой географической субпопуляции вируса [56], которые схематично представлены на **рисунке**.

Представленная информация, вопреки сложившемуся представлению о большей степени вариабельности латентных генов ВЭБ, отражает общую тенденцию смещения акцентов на выявление в масштабе всего генома ВЭБ изменчивости литических генов, что требует продолжения исследований и детального изучения данного вопроса.

Отметим также, что отдельные группы исследователей представили критический анализ широко используемой классификации по R.H. Edwards и со-

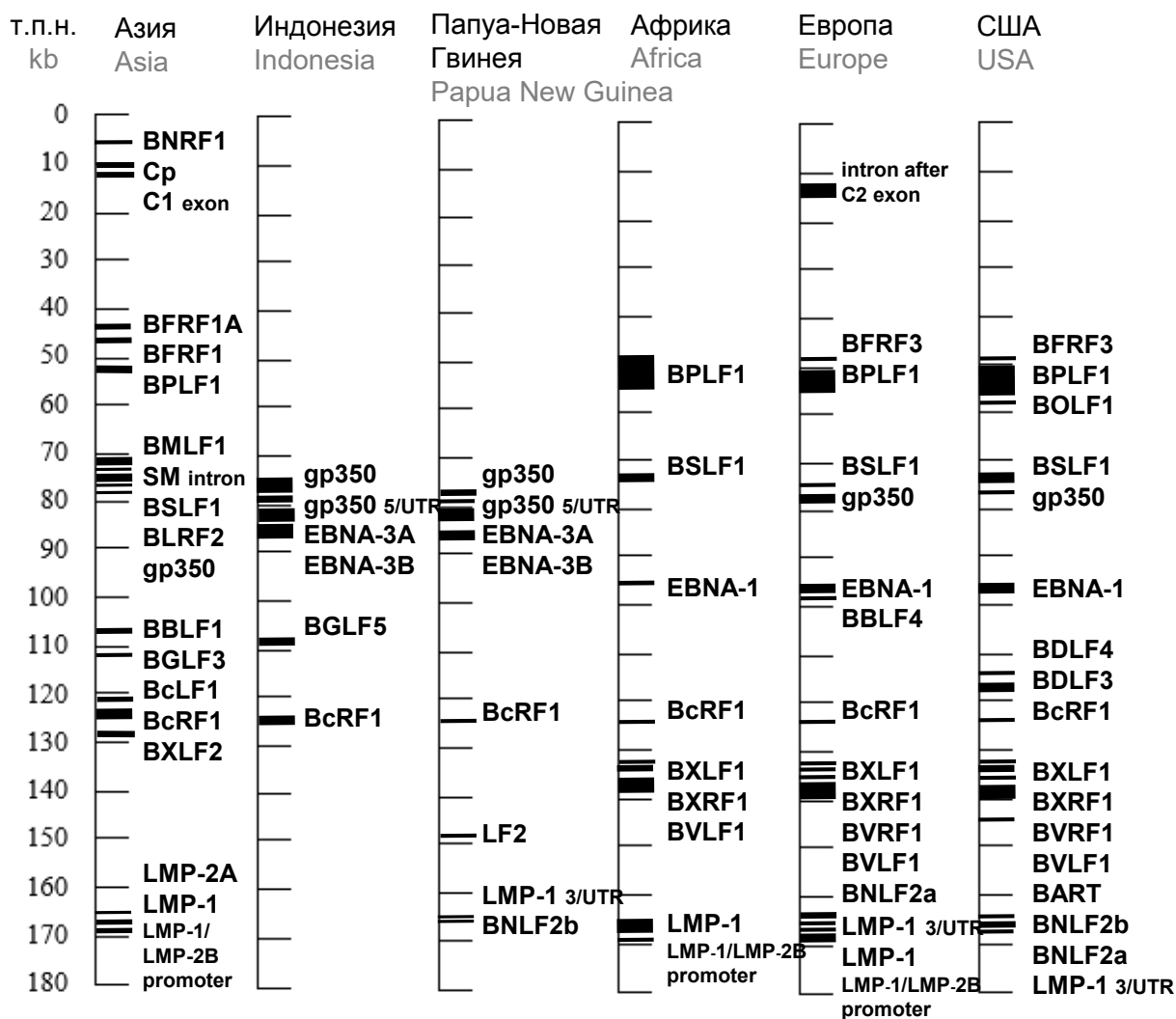


Схема положения основных SNP в геноме ВЭБ различного географического происхождения (относительно координат генома NC_007605).

Первичные данные о SNP представлены в таблице S3 в работе [56].

Schematic representation of the location of the main SNPs in the EBV genome of various geographic origin (relative to genome coordinates NC_007605).

Primary SNP data are presented in Table S3 in [56].

авт. [41] в свете современных представлений о геномной изменчивости ВЭБ, что требует переоценки подходов к её использованию во вновь планируемых исследованиях [19, 37].

Таким образом, за последнее десятилетие достижения в области секвенирования расширили существующие представления о глобальных закономерностях генетического разнообразия ВЭБ [26]. В целом подход на основе полногеномного секвенирования к настоящему времени позволил установить взаимосвязь циркулирующих штаммов ВЭБ с определённым географическим положением, однако оставил открытым вопрос о связи генетического разнообразия вируса с рядом ВЭБ-ассоциированных патологий.

К настоящему времени накоплено недостаточное количество данных, позволяющих оценить, как генетические вариации ВЭБ в масштабе всего генома могут влиять на инфекцию или патогенез ВЭБ-ассоциированных заболеваний. Хотя основное внимание исследователей по-прежнему направлено на поиск специфических вариантов и подтипов ВЭБ с высокой канцерогенностью, в литературе встречаются отдельные исследовательские работы по изучению естественной изменчивости генома ВЭБ при ИМ [7, 45], хронической активной ВЭБ-инфекции [35], рассеянном склерозе [54], постепенно увеличивается число новых последовательностей генома ВЭБ здоровых лиц [18].

За анализируемый период наибольшие достижения отмечены в области изучения специфических вариантов и подтипов ВЭБ высокого онкогенного риска, связанных с возникновением и развитием эндемичного РНГ на юге Китая. По итогам исследований последних лет сообщается о наборе новых генетических маркеров ВЭБ, ассоциированных с РНГ, включая вариант *EBERs HKNPC-EBERvar*, а также полиморфизмы генов *RPMS1 C155391A*, *A73 A157154C*, *BALF2 162476_C* или *163364_T*, *miR-BART7-3p* и *miR-BART13-3p*. Тем самым внимание исследователей концентрируется на необходимости переоценки роли вариаций в области *EBER*, *BART*, некоторых литических и структурных белков ВЭБ в канцерогенезе [57]. Наконец, одна из последних работ группы китайских исследователей, W.Q. Хуе и соавт. [8], основана на всестороннем генетическом анализе 628 геномов ВЭБ (231 случай рака, 397 контрольных) и 792 последовательностей единичных генов/белков-мишеней из GenBank. Важно отметить, что это исследование выполнялось на основе принципа случай–контроль. Филогенетический анализ и анализ главных компонент аминокислотных последовательностей, сгенерированных из 22 генов ВЭБ, отобранных авторами целевым образом, позволил в дополнение к общей географической сегрегации Азия — Запад/Африка установить «уникальный для Китая» кластер (96,57% изолятов

из Китая), связанный с РНГ, по сравнению со здоровым населением (89,6% против 44,5%). Из этого кластера были идентифицированы четыре РНГ-ассоциированные аминокислотные замены, расположенные в 3 белках (*BALF2 V317M*, *BNRF1 G696R*, *BNRF1 V1222I*, *RPMS1 D51E*). Комбинация этих 4 вариантов даёт показатель наиболее высокого риска ($OR = 32,00$; 95% ДИ 9,18–111,49), что позволяет оценить подтип ВЭБ, содержащий эти мутации, как канцерогенный в китайской популяции. Положительный отбор в эволюции белков-кандидатов дополнительно подтверждает значение этих подтипов высокого риска. Необходимы дальнейшие исследования, направленные на фенотипическое изучение подтипов и вариантов ВЭБ, что позволит в дальнейшем сформировать группы высокого онкогенного риска, среди представителей которых будет проводиться мониторинг с целью раннего выявления РНГ. Последующая разработка штамм-ориентированных вакцин позволит реализовать глобальную стратегию первичной профилактики развития РНГ [8].

При этом следует констатировать объективные трудности в изучении вопроса, посвящённого развитию исследований в области генетического разнообразия ВЭБ в настоящее время. На фоне динамичного развития данного направления исследований в публикациях можно отметить некоторый информационный хаос. Это обусловлено тем, что выводы исследователей пока основываются на относительно небольшом количестве геномов, секвенированных с переменным качеством, проанализированных с применением разных биоинформационных стратегий, с неравнозначной выборкой с точки зрения географического происхождения. При этом некоторые нозологические формы ВЭБ-ассоциированных заболеваний, географические области и этнические группы остаются не охарактеризованными. Сведения о проведении полногеномных исследований ВЭБ в России отсутствуют.

В частности, только 80% (628/781) геномных последовательностей из GenBank были аннотированы в достаточной для анализа степени и включали информацию о заболеваниях/состоянии здоровья, географическом происхождении, типе образца. Кроме того, распределение данных о геномах ВЭБ по их источнику и географическому происхождению отличается выраженной неравномерностью: почти 40% из них представлены последовательностями из Китая, несколько меньше — из Восточной Азии (в основном из Японии и Южной Кореи), а на долю Европы, Америки и Африки приходится менее 10% на фоне практически полного отсутствия охарактеризованных изолятов, выделенных от здоровых людей [8].

Большой размер генома ВЭБ по сравнению с другими вирусами делает крупномасштабное секвенирование его геномов дорогостоящим и тру-

доёмким. Технологии NGS возродили интерес к изучению генома ВЭБ и его связи с заболеваниями. В настоящее время в специализированных базах данных депонируется всё большее количество геномов ВЭБ [26]. Вместе с тем характеристика геномов ВЭБ, полученных из крови здоровых людей, остаётся сложной задачей в связи с низкой концентрацией вируса по сравнению с ДНК человека (от 1 до 10 копий ВЭБ/нг ДНК крови), а секвенирование геномов ВЭБ, полученных из слюны, приводит к удовлетворительному результату примерно в 20% образцов, что требует оптимизации протокола исследования. Кроме того, подготовка геномных библиотек в отношении ВЭБ гораздо менее эффективна в связи с наличием большого числа GC-регионов. Анализ геномных вариаций ВЭБ также затруднён вследствие методических ограничений, обусловленных наличием повторяющихся областей [25, 35]. Дальнейшее развитие технологии секвенирования наряду с оптимизацией существующих алгоритмов пробоподготовки позволит проводить изучение вариаций в повторяющихся регионах генома ВЭБ во взаимосвязи с развитием различных заболеваний на качественно новом уровне [15].

С ростом числа доступных геномов ВЭБ всё более важным аспектом становится разработка определённых критериев установления биологической значимости геномных вариаций вируса и их дальнейшего применения в клинической практике. В настоящее время не существует экспериментальной системы для исследования фенотипических изменений, вызванных генетическими вариациями ВЭБ, что представляет собой серьёзную проблему для будущих исследований [5].

Ранее были изложены критерии ВЭБ-ассоциированного онкогенеза [2]. Во-первых, ВЭБ должен присутствовать практически в каждой опухолевой клетке. Во-вторых, вирусная ДНК должна быть клональной (или олигоклональной), что указывало бы на происхождение опухоли из единственной инфицированной вирусом клетки. В-третьих, в случае злокачественных новообразований эпителиальных клеток вирусная ДНК должна присутствовать в диспластических поражениях, что указывает на ВЭБ-инфекцию именно во время онкогенеза. В-четвёртых, должен быть экспрессирован по крайней мере один латентный ген, связанный с ВЭБ, как свидетельство активной роли вируса в поддержании опухолевого процесса.

В общем контексте изучения ВЭБ-ассоциированных заболеваний дизайн исследований следует планировать с учётом анализа соответствующих контрольных последовательностей ВЭБ, так называемого ВЭБ дикого типа, циркулирующего среди иммунокомпетентных лиц без клинических признаков данного заболевания, проживающих в одном и том же географическом регионе и составляющих

определённую этническую группу. Обычной практикой является включение контроля, соответствующего возрасту и полу. При этом следует оценивать биосубстраты, полученные у одного и того же индивида или из одного и того же компартмента у разных лиц [26]. В настоящее время новые полногеномные исследования в формате случай–контроль остаются немногочисленными [8, 25]. Анализ геномных вариаций ВЭБ без сравнения с популяционным контролем может привести к риску определения географических вариаций как вариаций, связанных с заболеванием [15].

Заключение

Проведённый анализ данных литературы позволяет сделать следующие выводы.

1. Единой унифицированной системы, учитывающей всё генетическое разнообразие ВЭБ на основе применения метода гена-кандидата, сильные и слабые стороны как более ранних, так и современных классификаций, не существует. Большинство публикаций посвящены изучению онкогена *LMP-1*.

2. Развитие методических подходов на основе полногеномного секвенирования позволило определить главные паттерны генетического разнообразия ВЭБ. Первый паттерн — классификация на два основных типа — ВЭБ-1 и ВЭБ-2. Второй паттерн — географический, при этом популяция ВЭБ-1 разделяется на две клады — азиатские и неазиатские. Полногеномные последовательности ВЭБ-2 относительно малочисленны. Применение отличающихся авторских подходов генерирует разные географические модели распространённости субпопуляций вируса. Масштабных исследований клинической стратификации генетической изменчивости ВЭБ в контексте полного генома явно недостаточно. Значительная доля выявляемых вариантов и подтипов ВЭБ остаётся с неизученными фенотипическими характеристиками.

3. Для перспективного развития методологии молекулярно-биологических исследований в клинической практике и эпидемиологическом надзоре за ВЭБ-ассоциированными заболеваниями необходимо:

- оптимизировать существующие подходы к обогащению ДНК в клинических образцах с низкой вирусной нагрузкой;
- развивать технологии секвенирования повторяющихся областей генома ВЭБ и исследование проб, содержащих несколько штаммов;
- расширить географическое представительство последовательностей вирусных геномов, сбалансировав размер выборок по отдельным нозологическими формам (не только онкологические заболевания, но и разные формы ВЭБ-инфекции), а также здоровых вирусоносителей;

- каждую новую последовательность генома сопровождать аннотацией с достаточным объёмом информации об источнике;
- планировать дизайн исследований в формате случай–контроль;
- изучать фенотипические свойства новых кандидатов с потенциально высоким риском развития ВЭБ-ассоциированных заболеваний.

Развитие и оптимизация методических подходов на основе полногеномного секвенирования и секвенирования определённого набора генов будут способствовать расширению существующих представлений о генетическом разнообразии ВЭБ в мире, его связи с заболеваниями и, возможно, клиническими особенностями их течения, совершенствованию эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Epstein M.A., Achong B.G., Barr Y.M. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet*. 1964; 1(7335): 702–3. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(64\)91524-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(64)91524-7)
2. Knipe D.M., Howley P.M. *Fields virology*. 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
3. Khan G., Fitzmaurice C., Naghavi M., Ahmed L.A. Global and regional incidence, mortality and disability-adjusted life-years for Epstein–Barr virus-attributable malignancies, 1990–2017. *BMJ Open*. 2020; 10(8): e037505. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-037505>
4. Corvalán A.H., Ruedlinger J., de Mayo T., Polakovicova I., Gonzalez-Hormazabal P., Aguayo F. The phylogeographic diversity of EBV and admixed ancestry in the Americas — another model of disrupted human-pathogen co-evolution. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(2): 217. <https://doi.org/10.3390/cancers11020217>
5. Kanda T., Yajima M., Ikuta K. Epstein–Barr virus strain variation and cancer. *Cancer Sci*. 2019; 110(4): 1132–9. <https://doi.org/10.1111/cas.13954>
6. Neves M., Marinho-Dias J., Ribeiro J., Sousa H. Epstein–Barr virus strains and variations: Geographic or disease-specific variants? *J. Med. Virol*. 2017; 89(3): 373–87. <https://doi.org/10.1002/jmv.24633>
7. Blazquez A.C., Berenstein A.J., Torres C., Izquierdo A., Lezama C., Moscatelli G., et al. Comprehensive evolutionary analysis of complete Epstein–Barr virus genomes from Argentina and other geographies. *Viruses*. 2021; 13(6): 1172. <https://doi.org/10.3390/v13061172>
8. Xue W.Q., Wang T.M., Huang J.W., Zhang J.B., He Y.Q., Wu Z.Y., et al. A comprehensive analysis of genetic diversity of EBV reveals potential high-risk subtypes associated with nasopharyngeal carcinoma in China. *Virus Evol*. 2021; 7(1): veab010. <https://doi.org/10.1093/ve/veab010>
9. Гончарова Е.В., Сенюта Н.Б., Смирнова К.В., Щербак Л.Н., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) в России: инфицированность населения и анализ вариантов гена *LMP-1* у больных ВЭБ-ассоциированными патологиями и здоровых лиц. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(2): 11–7.
10. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году». М.; 2021.
11. Смирнова К.В., Дидук С.В., Гурцевич В.Э. Полиморфизм онкогена *LMP-1* вируса Эпштейна–Барр у представителей коренного малочисленного народа Дальнего Востока России. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017; 22(5): 239–47. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-5-239-247>
12. Смирнова К.В., Сенюта Н.Б., Лубенская А.К., Душенькина Т.Е., Гурцевич В.Э. Древние варианты вируса Эпштейна–Барр (*Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4*): гипотезы и факты. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(2): 77–86. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86>
13. Гурцевич В.Э., Смирнова К.В., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лубенская А.К., Дубар Э. и соавт. Полиморфизм онкогена *LMP-1* вируса Эпштейна–Барр в двух этнических группах России, татар и славян, и его влияние на развитие некоторых злокачественных опухолей. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10(2): 347–58. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-EBV-1162>
14. Сенюта Н.Б., Игнатова А.В., Ломаю М.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Душенькина Т.Е. и соавт. Вирус Эпштейна–Барр у больных раком носоглотки и здоровых лиц в двух географически различных регионах России. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7(1): 41–50. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-1-41-50>
15. Hui K.F., Chan T.F., Yang W., Shen J.J., Lam K.P., Kwok H., et al. High-risk Epstein–Barr virus variants characterized by distinct polymorphisms in the EBER locus are strongly associated with nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Cancer*. 2019; 144(12): 3031–42. <https://doi.org/10.1002/ijc.32049>
16. Xu M., Zhang W.L., Zhu Q., Zhang S., Yao Y.Y., Xiang T., et al. Genome-wide profiling of Epstein–Barr virus integration by targeted sequencing in Epstein–Barr virus associated malignancies. *Theranostics*. 2019; 9(4): 1115–24. <https://doi.org/10.7150/thno.29622>
17. Zhou L., Chen J.N., Qiu X.M., Pan Y.H., Zhang Z.G., Shao C.K. Comparative analysis of 22 Epstein–Barr virus genomes from diseased and healthy individuals. *J. Gen. Virol*. 2017; 98(1): 96–107. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000699>
18. Telford M., Hughes D.A., Juan D., Stoneking M., Navarro A., Santpere G. Expanding the geographic characterisation of Epstein–Barr virus variation through gene-based approaches. *Microorganisms*. 2020; 8(11): 1686. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111686>
19. Palser A.L., Grayson N.E., White R.E., Corton C., Correia S., Ba Abdullah M.M., et al. Genome diversity of Epstein–Barr virus from multiple tumor types and normal infection. *J. Virol*. 2015; 89(10): 5222–37. <https://doi.org/10.1128/JVI.03614-14>
20. Zanella L., Riquelme I., Buchegger K., Abanto M., Ili C., Brebi P. A reliable Epstein–Barr virus classification based on phylogenomic and population analyses. *Sci. Rep*. 2019; 9(1): 9829. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45986-3>
21. Wegner F., Lassalle F., Depledge D.P., Balloux F., Breuer J. Co-evolution of sites under immune selection shapes Epstein–Barr virus population structure. *Mol. Biol. Evol*. 2019; 36(11): 2512–21. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz152>
22. Baer R., Bankier A.T., Biggin M.D., Deininger P.L., Farrell P.J., Gibson T.G. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein–Barr virus genome. *Nature (London)*. 1984; 310(5974): 207–11. <https://doi.org/10.1038/310207a0>
23. Dambaugh T., Hennessy K., Chamnankit L., Kieff E. U2 region of Epstein–Barr virus DNA may encode Epstein–Barr nuclear antigen 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1984; 81(23): 7632–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.23.7632>
24. Sample J., Young L., Martin B., Chatman T., Kieff E., Rickinson A., et al. Epstein–Barr virus types 1 and 2 differ in their EBNA-3A, EBNA3B, and EBNA-3C genes. *J. Virol*. 1990; 64(9): 4084–92. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.9.4084-4092.1990>
25. Kaymaz Y., Oduor C.I., Aydemir O., Luftig M.A., Otieno J.A., Ong'echa J.M., et al. Epstein–Barr virus genomes reveal po-

- pulation structure and type 1 association with endemic Burkitt lymphoma. *J. Virol.* 2020; 94(17): e02007-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.02007-19>
26. Kwok H., Chiang A.K. From conventional to next generation sequencing of Epstein–Barr virus genomes. *Viruses.* 2016; 8(3): 60. <https://doi.org/10.3390/v8030060>
27. Smatti M.K., Al-Sadeq D.W., Ali N.H., Pintus G., Abou-Saleh H., Nasrallah G.K. Epstein–Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of *LMP-1* oncogene among healthy population: an update. *Front. Oncol.* 2018; 8: 211. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00211>
28. Correia S., Palser A., Elgueta Karstegl C., Middeldorp J.M., Ramayanti O., Cohen J.I., et al. Natural variation of Epstein–Barr virus genes, proteins, and primary MicroRNA. *J. Virol.* 2017; 91(15): e00375-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00375-17>
29. Попкова М.И., Уткин О.В., Соболева Е.А., Сахарнов Н.А., Брызгалова Д.А., Сенатская А.О. и соавт. Методические основы дифференциальной детекции ВЭБ1/ВЭБ2 и ВГЧ6А/ВГЧ6В. *Инфекция и иммунитет.* 2021; 11(6): 1057–66. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MBF-1661>
30. Traore L., Nikiema O., Ouattara A.K., Compaore T.R., Soubeiga S.T., Diarra B., et al. EBV and HHV-6 circulating subtypes in people living with HIV in Burkina Faso, impact on CD4 T cell count and HIV viral load. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 2017; 9(1): e2017049. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2017.049>
31. Rickinson A.B., Young L.S., Rowe M. Influence of the Epstein–Barr virus nuclear antigen EBNA 2 on the growth phenotype of virus-transformed B cells. *J. Virol.* 1987; 61(5): 1310–7. <https://doi.org/10.1128/JVI.61.5.1310-1317.1987>
32. Tsai M.H., Lin X., Shumilov A., Bernhardt K., Feederle R., Poirey R., et al. The biological properties of different Epstein–Barr virus strains explain their association with various types of cancers. *Oncotarget.* 2017; 8(6): 10238–54. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14380>
33. Monteiro T.A.F., Costa I.B., Costa I.B., Corrêa T.L.D.S., Coelho B.M.R., Silva A.E.S., et al. Genotypes of Epstein–Barr virus (EBV1/EBV2) in individuals with infectious mononucleosis in the metropolitan area of Belém, Brazil, between 2005 and 2016. *Braz. J. Infect. Dis.* 2020; 24(4): 322–9. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.06.004>
34. Santpere G., Darre F., Blanco S., Alcamí A., Villoslada P., Mar Albà M., et al. Genome-wide analysis of wild-type Epstein–Barr virus genomes derived from healthy individuals of the 1,000 genomes project. *Genome Biol. Evol.* 2014; 6(4): 846–60. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu054>
35. Correia S., Bridges R., Wegner F., Venturini C., Palser A., Middeldorp J.M., et al. Sequence variation of Epstein–Barr virus: viral types, geography, codon usage, and diseases. *J. Virol.* 2018; 92(22): e01132-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01132-18>
36. Banko A., Miljanovic D., Lazarevic I., Cirkovic A. A systematic review of Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 (LMP-1) gene variants in nasopharyngeal carcinoma. *Pathogens.* 2021; 10(8): 1057. <https://doi.org/10.3390/pathogens10081057>
37. Liao H.M., Liu H., Lei H., Li B., Chin P.J., Tsai S., et al. Frequency of EBV LMP-1 promoter and coding variations in Burkitt lymphoma samples in Africa and South America and peripheral blood in Uganda. *Cancers (Basel).* 2018; 10(6): 177. <https://doi.org/10.3390/cancers10060177>
38. Hu L.F., Zabarovsky E.R., Chen F., Cao S.L., Ernberg I., Klein G., et al. Isolation and sequencing of the Epstein–Barr virus *BNLF-1* gene (LMP-1) from a Chinese nasopharyngeal carcinoma. *J. Gen. Virol.* 1991; 72(Pt. 10): 2399–409. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-10-2399>
39. Sandvej K., Gratama J.W., Munch M., Zhou X.G., Bolhuis R.L., Andresen B.S., et al. Sequence analysis of the Epstein–Barr virus (EBV) latent membrane protein-1 gene and promoter region: identification of four variants among wild-type EBV isolates. *Blood.* 1997; 90(1): 323–30. <https://doi.org/10.1182/blood.V90.1.323>
40. Яковлева Л.С., Сенюта Н.Б., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Смирнова К.В., Павлиш О.А. и соавт. Варианты онкогена *LMP-1* вируса Эпштейна–Барр в клеточных линиях различного происхождения. *Молекулярная биология.* 2015; 49(5): 800–10. <https://doi.org/10.7868/S0026898415050213>
41. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein–Barr virus strains. *Virology.* 1999; 261(1): 79–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
42. Walling D.M., Shebib N., Weaver S.C., Nichols C.M., Flaitz C.M., Webster-Cyriaque J. The molecular epidemiology and evolution of Epstein–Barr virus: Sequence variation and genetic recombination in the latent membrane protein-1 gene. *J. Infect. Dis.* 1999; 179(4): 763–74. <https://doi.org/10.1086/314672>
43. Lei H., Li T., Li B., Tsai S., Biggar R.J., Nkrumah F., et al. Epstein–Barr virus from Burkitt lymphoma biopsies from Africa and South America share novel LMP-1 promoter and gene variations. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16706. <https://doi.org/10.1038/srep16706>
44. Tierney R.J., Edwards R.H., Sitki-Green D., Croom-Carter D., Roy S., Yao Q.Y., et al. Multiple Epstein–Barr virus strains in patients with infectious mononucleosis: comparison of *ex vivo* samples with *in vitro* isolates by use of heteroduplex tracking assays. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(3): 287–97. <https://doi.org/10.1086/498913>
45. Weiss E.R., Lamers S.L., Henderson J.L., Melnikov A., Soma-sundaran M., Garber M., et al. Early Epstein–Barr virus genomic diversity and convergence toward the B95.8 genome in primary infection. *J. Virol.* 2018; 92(2): e01466-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01466-17>
46. Bhatia K., Raj A., Guitierrez M.I., Judde J.G., Spangler G., Venkatesh H., et al. Variation in the sequence of Epstein–Barr virus nuclear antigen 1 in normal peripheral blood lymphocytes and in Burkitt's lymphomas. *Oncogene.* 1996; 13(1): 177–81.
47. Thuan L.D., Kha N.D., Minh N.T., Thuy L. Novel patterns of the Epstein–Barr nuclear antigen (EBNA-1) V-Val subtype in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma from Vietnam. *Balkan. J. Med. Genet.* 2019; 22(1): 61–8. <https://doi.org/10.2478/bjmg-2019-0011>
48. Martini M., Capello D., Serraino D., Navarra A., Pierconti F., Cenci T., et al. Characterization of variants in the promoter of EBV gene BZLF1 in normal donors, HIV-positive patients and in AIDS-related lymphomas. *J. Infect.* 2007; 54(3): 298–306. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.04.015>
49. Bristol J.A., Djavadian R., Albright E.R., Coleman C.B., Ohashi M., Hayes M., et al. A cancer-associated Epstein–Barr virus BZLF1 promoter variant enhances lytic infection. *PLoS Pathog.* 2018; 14(7): e1007179. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007179>
50. Gumperz J., Sherer N.M., Farrell P.J., Johannsen E.C., Kenney S.C. B cells infected with type 2 Epstein–Barr virus (EBV) have increased NFATc1/NFATc2 activity and enhanced lytic gene expression in comparison to Type 1 EBV infection. *PLoS Pathog.* 2020; 16(2): e1008365. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008365>
51. Liu J., Ji X., Shen Z., Wang Ph.D. Y., Luo Ph.D. B. Sequence variations of Epstein–Barr virus-encoded BARF1 gene in nasopharyngeal carcinomas and healthy donors from southern and northern China. *J. Med. Virol.* 2018; 90(10): 1629–35. <https://doi.org/10.1002/jmv.25233>
52. Kim H., Burassakarn A., Kang Y., Iizasa H., Yoshiyama H. A single nucleotide polymorphism in the BART promoter region of Epstein–Barr virus isolated from nasopharyngeal cancer

cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019; 520(2): 373–8. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.10.028>

53. Wang Y., Zhang X., Chao Y., Jia Y., Xing X., Luo B. New variations of Epstein–Barr virus-encoded small RNA genes in nasopharyngeal carcinomas, gastric carcinomas, and healthy donors in northern China. *J. Med. Virol.* 2010; 82(5): 829–36. <https://doi.org/10.1002/jmv.21714>
 54. Chiara M., Manzari C., Lionetti C., Mechelli R., Anastasiadou E., Chiara Buscarinu M., et al. Geographic population structure in Epstein–Barr virus revealed by comparative genomics. *Genome Biol. Evol.* 2016; 8(11): 3284–91. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw226>
 55. Tu C., Zeng Z., Qi P., Li X., Yu Z., Guo C., et al. Genome-Wide analysis of 18 Epstein–Barr viruses isolated from primary nasopharyngeal carcinoma biopsy specimens. *J. Virol.* 2017; 91(17): e00301-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00301-17>
 56. Bridges R., Correia S., Wegner F., Venturini C., Palser A., White R.E., et al. Essential role of inverted repeat in Epstein–Barr virus IR-1 in B cell transformation; geographical variation of the viral genome. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2019; 374(1773): 20180299. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0299>
 57. Siak P.Y., Khoo A.S., Leong C.O., Hoh B.P., Cheah S.C. Current status and future perspectives about molecular biomarkers of nasopharyngeal carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(14): 3490. <https://doi.org/10.3390/cancers13143490>
- REFERENCES
1. Epstein M.A., Achong B.G., Barr Y.M. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet.* 1964; 1(7335): 702–3. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(64\)91524-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(64)91524-7)
 2. Knipe D.M., Howley P.M. *Fields virology*. 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
 3. Khan G., Fitzmaurice C., Naghavi M., Ahmed L.A. Global and regional incidence, mortality and disability-adjusted life-years for Epstein–Barr virus-attributable malignancies, 1990–2017. *BMJ Open.* 2020; 10(8): e037505. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-037505>
 4. Corvalán A.H., Ruedlinger J., de Mayo T., Polakovicova I., Gonzalez-Hormazabal P., Aguayo F. The phylogeographic diversity of EBV and admixed ancestry in the Americas – another model of disrupted human-pathogen co-evolution. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(2): 217. <https://doi.org/10.3390/cancers11020217>
 5. Kanda T., Yajima M., Ikuta K. Epstein–Barr virus strain variation and cancer. *Cancer Sci.* 2019; 110(4): 1132–9. <https://doi.org/10.1111/cas.13954>
 6. Neves M., Marinho-Dias J., Ribeiro J., Sousa H. Epstein–Barr virus strains and variations: Geographic or disease-specific variants? *J. Med. Virol.* 2017; 89(3): 373–87. <https://doi.org/10.1002/jmv.24633>
 7. Blazquez A.C., Berenstein A.J., Torres C., Izquierdo A., Lezama C., Moscatelli G., et al. Comprehensive evolutionary analysis of complete Epstein–Barr virus genomes from Argentina and other geographies. *Viruses.* 2021; 13(6): 1172. <https://doi.org/10.3390/v13061172>
 8. Xue W.Q., Wang T.M., Huang J.W., Zhang J.B., He Y.Q., Wu Z.Y., et al. A comprehensive analysis of genetic diversity of EBV reveals potential high-risk subtypes associated with nasopharyngeal carcinoma in China. *Virus Evol.* 2021; 7(1): ve-ab010. <https://doi.org/10.1093/ve/veab010>
 9. Goncharova E.V., Senyuta N.B., Smirnova K.V., Shcherbak L.N., Gurtsevich V.E. Epstein–Barr virus (EBV) in Russia: infection of the population and analysis of the LMP-1 gene variants in patients with EBV-associated pathologies and healthy individuals. *Voprosy virusologii.* 2015; 60(2): 11–7. (in Russian)
 10. State report «On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2020». Moscow; 2021. (in Russian)
 11. Smirnova K.V., Diduk S.V., Gurtsevich V.E. Polymorphism of Epstein–Barr virus LMP-1 oncogene in Nanaians, representatives of indigenous minority of the Russian Far East. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni.* 2017; 22(5): 239–47. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-5-239-247> (in Russian)
 12. Smirnova K.V., Senyuta N.B., Lubenskaya A.K., Dushen'kina T.E., Gurtsevich V.E. Ancient variants of the Epstein–Barr virus (Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4): hypotheses and facts. *Voprosy virusologii.* 2020; 65(2): 77–86. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86> (in Russian)
 13. Gurtsevich V.E., Smirnova K.V., Botezatu I.V., Dushen'kina T.E., Lubenskaya A.K., Dubar E., et al. Epstein–Barr virus LMP-1 oncogene polymorphism in Tatar and Slavic populations in Russian Federation impacting on some malignant tumours. *Infektsiya i immunitet.* 2020; 10(2): 347–58. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-EBV-1162> (in Russian)
 14. Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Goncharova E.V., Shcherbak L.N., Dushen'kina T.E., et al. Epstein–Barr virus in the population of two geographically different regions of Russia. *Infektsiya i immunitet.* 2017; 7(1): 41–50. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-1-41-50> (in Russian)
 15. Hui K.F., Chan T.F., Yang W., Shen J.J., Lam K.P., Kwok H., et al. High-risk Epstein–Barr virus variants characterized by distinct polymorphisms in the EBER locus are strongly associated with nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Cancer.* 2019; 144(12): 3031–42. <https://doi.org/10.1002/ijc.32049>
 16. Xu M., Zhang W.L., Zhu Q., Zhang S., Yao Y.Y., Xiang T., et al. Genome-wide profiling of Epstein–Barr virus integration by targeted sequencing in Epstein–Barr virus associated malignancies. *Theranostics.* 2019; 9(4): 1115–24. <https://doi.org/10.7150/thno.29622>
 17. Zhou L., Chen J.N., Qiu X.M., Pan Y.H., Zhang Z.G., Shao C.K. Comparative analysis of 22 Epstein–Barr virus genomes from diseased and healthy individuals. *J. Gen. Virol.* 2017; 98(1): 96–107. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000699>
 18. Telford M., Hughes D.A., Juan D., Stoneking M., Navarro A., Santpere G. Expanding the geographic characterisation of Epstein–Barr virus variation through gene-based approaches. *Microorganisms.* 2020; 8(11): 1686. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111686>
 19. Palser A.L., Grayson N.E., White R.E., Corton C., Correia S., Ba Abdullah M.M., et al. Genome diversity of Epstein–Barr virus from multiple tumor types and normal infection. *J. Virol.* 2015; 89(10): 5222–37. <https://doi.org/10.1128/JVI.03614-14>
 20. Zanella L., Riquelme I., Buchegger K., Abanto M., Ili C., Brebi P. A reliable Epstein–Barr virus classification based on phylogenetic and population analyses. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 9829. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45986-3>
 21. Wegner F., Lassalle F., Depledge D.P., Balloux F., Breuer J. Co-evolution of sites under immune selection shapes Epstein–Barr virus population structure. *Mol. Biol. Evol.* 2019; 36(11): 2512–21. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz152>
 22. Baer R., Bankier A.T., Biggin M.D., Deininger P.L., Farrell P.J., Gibson T.G. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein–Barr virus genome. *Nature (London)*. 1984; 310(5974): 207–11. <https://doi.org/10.1038/310207a0>
 23. Dambaugh T., Hennessy K., Chamnankit L., Kieff E. U2 region of Epstein–Barr virus DNA may encode Epstein–Barr nuclear antigen 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1984; 81(23): 7632–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.23.7632>
 24. Sample J., Young L., Martin B., Chatman T., Kieff E., Rickinson A., et al. Epstein–Barr virus types 1 and 2 differ in their EBNA-3A, EBNA3B, and EBNA-3C genes. *J. Virol.* 1990; 64(9): 4084–92. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.9.4084-4092.1990>
 25. Kaymaz Y., Oduor C.I., Aydemir O., Luftig M.A., Otieno J.A., Ong'echa J.M., et al. Epstein–Barr virus genomes reveal popu-

- lation structure and type 1 association with endemic Burkitt lymphoma. *J. Virol.* 2020; 94(17): e02007-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.02007-19>
26. Kwok H., Chiang A.K. From conventional to next generation sequencing of Epstein–Barr virus genomes. *Viruses.* 2016; 8(3): 60. <https://doi.org/10.3390/v8030060>
27. Smatti M.K., Al-Sadeq D.W., Ali N.H., Pintus G., Abou-Saleh H., Nasrallah G.K. Epstein–Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of LMP-1 oncogene among healthy population: an update. *Front. Oncol.* 2018; 8: 211. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00211>
28. Correia S., Palser A., Elgueta Karstegl C., Middeldorp J.M., Ramayanti O., Cohen J.I., et al. Natural variation of Epstein–Barr virus genes, proteins, and primary MicroRNA. *J. Virol.* 2017; 91(15): e00375-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00375-17>
29. Popkova M.I., Utkin O.V., Soboleva E.A., Sakharnov N.A., Bryzgalova D.A., Senatskaya A.O., et al. Methodological basics for differential detection of EBV1/EBV2 and HHV6A/HHV6B. *Infektsiya i immunitet.* 2021; 11(6): 1057–66. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MBF-1661> (in Russian)
30. Traore L., Nikiema O., Ouattara A.K., Compaore T.R., Soubeyga S.T., Diarra B., et al. EBV and HHV-6 circulating subtypes in people living with HIV in Burkina Faso, impact on CD4 T cell count and HIV viral load. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 2017; 9(1): e2017049. <https://doi.org/10.4084/mjihid.2017.049>
31. Rickinson A.B., Young L.S., Rowe M. Influence of the Epstein–Barr virus nuclear antigen EBNA 2 on the growth phenotype of virus-transformed B cells. *J. Virol.* 1987; 61(5): 1310–7. <https://doi.org/10.1128/JVI.61.5.1310-1317.1987>
32. Tsai M.H., Lin X., Shumilov A., Bernhardt K., Feederle R., Poirey R., et al. The biological properties of different Epstein–Barr virus strains explain their association with various types of cancers. *Oncotarget.* 2017; 8(6): 10238–54. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14380>
33. Monteiro T.A.F., Costa I.B., Costa I.B., Corrêa T.L.D.S., Coelho B.M.R., Silva A.E.S., et al. Genotypes of Epstein–Barr virus (EBV1/EBV2) in individuals with infectious mononucleosis in the metropolitan area of Belém, Brazil, between 2005 and 2016. *Braz. J. Infect. Dis.* 2020; 24(4): 322–9. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.06.004>
34. Santpere G., Darre F., Blanco S., Alcamí A., Villoslada P., Mar Albà M., et al. Genome-wide analysis of wild-type Epstein–Barr virus genomes derived from healthy individuals of the 1,000 genomes project. *Genome Biol. Evol.* 2014; 6(4): 846–60. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu054>
35. Correia S., Bridges R., Wegner F., Venturini C., Palser A., Middeldorp J.M., et al. Sequence variation of Epstein–Barr virus: viral types, geography, codon usage, and diseases. *J. Virol.* 2018; 92(22): e01132-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01132-18>
36. Banko A., Miljanovic D., Lazarevic I., Cirkovic A. A systematic review of Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 (LMP-1) gene variants in nasopharyngeal carcinoma. *Pathogens.* 2021; 10(8): 1057. <https://doi.org/10.3390/pathogens10081057>
37. Liao H.M., Liu H., Lei H., Li B., Chin P.J., Tsai S., et al. Frequency of EBV LMP-1 promoter and coding variations in Burkitt lymphoma samples in Africa and South America and peripheral blood in Uganda. *Cancers (Basel).* 2018; 10(6): 177. <https://doi.org/10.3390/cancers10060177>
38. Hu L.F., Zabarovsky E.R., Chen F., Cao S.L., Ernberg I., Klein G., et al. Isolation and sequencing of the Epstein–Barr virus BNLF-1 gene (LMP-1) from a Chinese nasopharyngeal carcinoma. *J. Gen. Virol.* 1991; 72(Pt. 10): 2399–409. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-10-2399>
39. Sandvej K., Gratama J.W., Munch M., Zhou X.G., Bolhuis R.L., Andresen B.S., et al. Sequence analysis of the Epstein–Barr virus (EBV) latent membrane protein-1 gene and promoter region: identification of four variants among wild-type EBV isolates. *Blood.* 1997; 90(1): 323–30. <https://doi.org/10.1182/blood.V90.1.323>
40. Yakovleva L.S., Senyuta N.B., Goncharova E.V., Shcherbak L.N., Smirnova K.V., Pavlish O.A., et al. Epstein–Barr virus LMP-1 oncogene variants in cell lines of different origin. *Molekulyarnaya biologiya.* 2015; 49(5): 800–10. <https://doi.org/10.7868/S0026898415050213> (in Russian)
41. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein–Barr virus strains. *Virology.* 1999; 261(1): 79–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
42. Walling D.M., Shebib N., Weaver S.C., Nichols C.M., Flaitz C.M., Webster-Cyriaque J. The molecular epidemiology and evolution of Epstein–Barr virus: Sequence variation and genetic recombination in the latent membrane protein-1 gene. *J. Infect. Dis.* 1999; 179(4): 763–74. <https://doi.org/10.1086/314672>
43. Lei H., Li T., Li B., Tsai S., Biggar R.J., Nkrumah F., et al. Epstein–Barr virus from Burkitt lymphoma biopsies from Africa and South America share novel LMP-1 promoter and gene variations. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16706. <https://doi.org/10.1038/srep16706>
44. Tierney R.J., Edwards R.H., Sitki-Green D., Croom-Carter D., Roy S., Yao Q.Y., et al. Multiple Epstein–Barr virus strains in patients with infectious mononucleosis: comparison of ex vivo samples with in vitro isolates by use of heteroduplex tracking assays. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(3): 287–97. <https://doi.org/10.1086/498913>
45. Weiss E.R., Lamers S.L., Henderson J.L., Melnikov A., Somasundaram M., Garber M., et al. Early Epstein–Barr virus genomic diversity and convergence toward the B95.8 genome in primary infection. *J. Virol.* 2018; 92(2): e01466-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01466-17>
46. Bhatia K., Raj A., Guitierrez M.I., Judde J.G., Spangler G., Venkatesh H., et al. Variation in the sequence of Epstein–Barr virus nuclear antigen 1 in normal peripheral blood lymphocytes and in Burkitt’s lymphomas. *Oncogene.* 1996; 13(1): 177–81.
47. Thuan L.D., Kha N.D., Minh N.T., Thuy L. Novel patterns of the Epstein–Barr nuclear antigen (EBNA-1) V-Val subtype in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma from Vietnam. *Balkan. J. Med. Genet.* 2019; 22(1): 61–8. <https://doi.org/10.2478/bjmg-2019-0011>
48. Martini M., Capello D., Serraino D., Navarra A., Pierconti F., Cenci T., et al. Characterization of variants in the promoter of EBV gene BZLF1 in normal donors, HIV-positive patients and in AIDS-related lymphomas. *J. Infect.* 2007; 54(3): 298–306. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.04.015>
49. Bristol J.A., Djavadian R., Albrichter E.R., Coleman C.B., Ohashi M., Hayes M., et al. A cancer-associated Epstein–Barr virus BZLF1 promoter variant enhances lytic infection. *PLoS Pathog.* 2018; 14(7): e1007179. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007179>
50. Gumperz J., Sherer N.M., Farrell P.J., Johannsen E.C., Kenney S.C. B cells infected with type 2 Epstein–Barr virus (EBV) have increased NFATc1/NFATc2 activity and enhanced lytic gene expression in comparison to Type 1 EBV infection. *PLoS Pathog.* 2020; 16(2): e1008365. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008365>
51. Liu J., Ji X., Shen Z., Wang Ph.D. Y., Luo Ph.D. B. Sequence variations of Epstein–Barr virus-encoded BARTF1 gene in nasopharyngeal carcinomas and healthy donors from southern and northern China. *J. Med. Virol.* 2018; 90(10): 1629–35. <https://doi.org/10.1002/jmv.25233>
52. Kim H., Burassakarn A., Kang Y., Iizasa H., Yoshiyama H. A single nucleotide polymorphism in the BART promoter region of Epstein–Barr virus isolated from nasopharyngeal cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019; 520(2): 373–8. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.10.028>
53. Wang Y., Zhang X., Chao Y., Jia Y., Xing X., Luo B. New variations of Epstein–Barr virus-encoded small RNA genes in nasopharyngeal carcinomas, gastric carcinomas, and healthy donors

- in northern China. *J. Med. Virol.* 2010; 82(5): 829–36. <https://doi.org/10.1002/jmv.21714>
54. Chiara M., Manzari C., Lionetti C., Mechelli R., Anastasiadou E., Chiara Buscarinu M., et al. Geographic population structure in Epstein–Barr virus revealed by comparative genomics. *Genome Biol. Evol.* 2016; 8(11): 3284–91. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw226>
55. Tu C., Zeng Z., Qi P., Li X., Yu Z., Guo C., et al. Genome-Wide analysis of 18 Epstein–Barr viruses isolated from primary nasopharyngeal carcinoma biopsy specimens. *J. Virol.* 2017; 91(17): e00301-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00301-17>
56. Bridges R., Correia S., Wegner F., Venturini C., Palser A., White R.E., et al. Essential role of inverted repeat in Epstein–Barr virus IR-1 in B cell transformation; geographical variation of the viral genome. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2019; 374(1773): 20180299. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0299>
57. Siak P.Y., Khoo A.S., Leong C.O., Hoh B.P., Cheah S.C. Current status and future perspectives about molecular biomarkers of nasopharyngeal carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(14): 3490. <https://doi.org/10.3390/cancers13143490>

Информация об авторах

Попкова Мария Игоревна[✉] — к.м.н., в.н.с. лаб. молекулярной биологии и биотехнологии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, popmarig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5864-5862>

Уткин Олег Владимирович — к.б.н., зав. лаб. молекулярной биологии и биотехнологии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7571-525X>

Участие авторов: Попкова М.И. — написание статьи. Уткин О.В. — коррекция и одобрение статьи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 30.12.2021;
принята к публикации 14.02.2022;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Mariia I. Popkova[✉] — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of molecular biology and biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, popmarig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5864-5862>

Oleg V. Utkin — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of molecular biology and biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, utkino2004@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7571-525X>

Author contribution: Popkova M.I. — writing an article. Utkin O.V. — correction and approval of the article. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 30.12.2021;
accepted for publication 14.02.2022;
published 28.02.2022



Гнойно-септические инфекции у родильниц. Часть 1. Распространённость, факторы риска, эпидемиологический надзор (обзор литературы)

Смирнова С.С.^{1,2}, Егоров И.А.^{1✉}, Голубкова А.А.^{3,4}

¹Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия;

²Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия;

³Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия;

⁴Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Россия

Аннотация

Гнойно-септические инфекции (ГСИ) родильниц — одна из ведущих медико-социальных проблем современного здравоохранения. Значительная распространённость, тенденция к росту, недостаточная полнота их выявления и регистрации наряду с высокой степенью акушерской агрессии — вот современные черты данной группы инфекций.

Для изучения распространённости ГСИ послеродового периода (сепсис, перитонит, эндометрит, мастит и инфекции области хирургического вмешательства), выявления факторов риска и оценки эффективности эпидемиологического надзора за данными инфекциями был проведён анализ публикаций по этой тематике на нескольких информационных ресурсах: eLibrary, Google Scholar, PubMed, NCBI.

Установлено, что наиболее распространённой формой ГСИ родильниц является послеродовой эндометрит, на который приходится 3–20% случаев, а среди пациенток с послеродовыми воспалительными осложнениями — до 40,0–54,3%.

Одним из ведущих факторов риска развития ГСИ после родов является хирургическое вмешательство. Так, кесарево сечение увеличивает риск возникновения ГСИ на 5–20%.

Системы эпидемиологического надзора за ГСИ родильниц в разных странах имеют различия в подходе как к выявлению, учёту и регистрации случаев, так и к сбору сведений о месте и времени их наибольшего риска.

Таким образом, ГСИ родильниц являются динамически изменяющейся междисциплинарной проблемой на стыке акушерства, гинекологии и эпидемиологии. Несмотря на данные о распространённости отдельных нозологий и факторах их риска, существует ряд проблемных вопросов, которые могут быть предметом обсуждения и требуют решения.

Ключевые слова: обзор, гнойно-септические инфекции родильниц, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, кесарево сечение, послеродовой сепсис, послеродовой эндометрит, инфекции области хирургического вмешательства родильниц, послеродовой мастит, факторы риска, эпидемиологический надзор

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

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

Для цитирования: Смирнова С.С., Егоров И.А., Голубкова А.А. Гнойно-септические инфекции у родильниц. Часть 1. Распространённость, факторы риска, эпидемиологический надзор (обзор литературы). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99:109–125.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-226>

Review article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-226>

Purulent-septic infections in puerperas. Part 1. Prevalence, risk factors, epidemiological surveillance (literature review)

Svetlana S. Smirnova^{1,2}, Ivan A. Egorov^{1✉}, Alla A. Golubkova^{3,4}¹Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Yekaterinburg, Russia;²Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia;³Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia;⁴Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia

Abstract

Purulent-septic infections (PSI) of puerperas are one of the leading medical and social problems of modern health care. A significant prevalence, an upward trend, insufficient completeness of their identification and registration, along with a high degree of obstetric aggression — these are the modern features of this group of infections.

To study the prevalence of PSI in the postpartum period (sepsis, peritonitis, endometritis, mastitis, and surgical site infections), identify risk factors, and assess the effectiveness of epidemiological surveillance of these infections, the analysis of publications on this topic has been carried out on several information resources: eLibrary, Google Scholar, PubMed, NCBI.

Postpartum endometritis was found to be the most common form of PSI in puerperas, accounting for 3 to 20% PSI cases, and up to 40.0–54.3% among patients with postpartum inflammatory complications.

Surgical intervention is one of the leading risk factors for the development of PSI after childbirth. For example, a cesarean section increases the risk of PSI by 5–20%.

The systems of epidemiological surveillance for PSI of puerperas in different countries differ in the approach both to identifying, recording and registering cases, and to collecting information about the place and time of their highest risk.

PSI of puerperas is a dynamically changing interdisciplinary problem at the intersection of obstetrics, gynecology and epidemiology. Despite the data on the prevalence of certain nosologies and their risk factors, there are a number of issues that can be discussed and need to be addressed.

Keywords: *review, purulent-septic infections of puerperas, infections associated with the provision of medical care, postpartum endometritis, postpartum sepsis, infections of the surgical site of puerperas, caesarean section, risk factors, epidemiological surveillance*

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

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

For citation: Smirnova S.S., Egorov I.A., Golubkova A.A. Purulent-septic infections in puerperas. Part 1: prevalence, risk factors, epidemiological surveillance (literature review). *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2022;99:109–125.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-226>

Введение

Проблема послеродового сепсиса, или так называемой «родильной горячки», как причина материнской смертности существовала с глубокой древности. Г.В. Хаггард отмечал, что в Европе в XVII–XIX вв. «родильная горячка» имела эпидемическое распространение. В промежутке между 1652 и 1862 г. были описаны 200 эпидемий этой болезни. В Англии «родильная горячка» встречалась в виде отдельных эпидемических вспышек, хотя в остальной части Европы она уносила жизни множества женщин. Так, в 1776 г. в Ломбардии ни одна женщина не выживала после родов из-за того, что врачи не

могли распознать и вылечить «заражение крови» и раневую инфекцию [1].

На высокую смертность женщин от «родильной лихорадки» впервые обратил внимание Игнац Филипп Земмельвейс. В наблюдательном эпидемиологическом исследовании он обратил внимание на то, что в клинике, где проходили практику студенты-медики, рабочий день которых начинался с посещения анатомического театра и вскрытия трупов умерших, в родильном отделении уровень материнской смертности составлял 98,4 случая на 1000 родов. В клинике, где роды принимали акушерки, которые не участвовали при вскрытиях умерших

от «родильной горячки» женщин, — 36,2%. Так, за много лет до открытия микробов И.Ф. Земмельвейс пришёл к заключению, что причина «родильной горячки» — в так называемых «частичках вскрытий», которые студенты-медики приносили в родильное отделение из прозекторской на своих руках [2].

В мае 1847 г. И.Ф. Земмельвейс перед входом в родильное отделение потребовал от студентов-медиков обязательного мытья рук в 4% хлорной воде. Результат не заставил себя ждать, и уже в 1848 г. уровень материнской смертности в этой клинике снизился до 12,7%, что было сопоставимо с аналогичным показателем клиники, где работали акушерки (13,3%), и смертностью в период с 1784 по 1822 г., когда массовых вскрытий трупов не проводили (12,5%). Результаты исследования И.Ф. Земмельвейса, хотя и имели большое практическое значение, не нашли признания у коллег, т.к. ставили под сомнение традиционную медицинскую практику того времени [1–3]. Антисептика вошла в рутинную практику акушерства только в 1880-е гг. благодаря исследованиям английского хирурга Дж. Листера.

В современном мире оказание акушерской помощи перешло на качественно новый уровень. Создана 3-уровневая система оказания медицинской помощи матерям и детям с учётом показателей перинатального риска для каждой беременной женщины. Работа акушерских стационаров всех уровней в настоящее время организована по принципу совместного пребывания матери и ребёнка, сокращения времени пребывания в послеродовом отделении до 3–4 дней, приверженности грудному вскармливанию и отказу от большинства рутинных процедур. Однако, несмотря на организационные решения, проблема гнойно-септических инфекций (ГСИ) послеродового периода и связанной с ней материнской смертности актуальна [4, 5].

Основная часть

Целью системного обзора является обобщение и систематизация данных о распространённости и ведущих факторах риска ГСИ послеродового периода (сепсис, перитонит, эндометрит, мастит, инфекции области хирургического вмешательства — ИОХВ) и краткая характеристика систем эпидемиологического надзора за данными инфекциями в разных странах.

Поиск публикаций осуществлялся путём введения поисковых запросов по ключевым словам: материнская смертность, ГСИ родильниц, послеродовой сепсис, послеродовой эндометрит, послеродовой мастит, лактационный мастит, ИОХВ после кесарева сечения, ИОХВ после эпизиотомии, maternal death, maternal sepsis, sepsis in pregnancy, cesarean sections, postcesarean section, wound infection, perineal trauma, mastitis, endometritis в научной

электронной библиотеке eLibrary, поисковой системе по полным текстам научных публикаций Академия Google (Google Scholar), на английском языке в Национальной медицинской библиотеке США PubMed (MEDLINE), базе Национального центра биотехнологической информации США (NCBI).

Глубина поиска составила 20 лет (2000–2020 гг.). В процессе поиска были найдены 7179 публикаций. В обзор включали публикации при условии наличия в них данных о заболеваемости или распространённости нозологических форм ГСИ родильниц в разных странах либо данных о факторах риска с указанием отношения шансов (OR) и относительного риска (RR) — OR/RR и его 95% доверительного интервала. Этим критериям поиска соответствовали 44 публикации.

Группировку стран в зависимости от уровня дохода проводили по показателю Всемирного банка — «валовой национальный доход на душу населения» в 2020 г.¹

Заболеваемость ГСИ в послеродовом периоде в разных странах

В настоящее время нет единого перечня нозологических форм ГСИ родильниц, подлежащих регистрации. В разных странах существуют разные подходы к выявлению и регистрации случаев ГСИ, возникающих в послеродовом периоде. В значительном числе стран проводится анализ только двух показателей: инцидентность послеродового сепсиса и материнская смертность.

В разных странах, стратифицированных в зависимости от уровня доходов на душу населения, данные о частоте ГСИ в послеродовом периоде существенно различаются. Уровень доходов косвенно характеризует доступность медицинской помощи и готовность населения обращаться за помощью в медицинские организации. Мы проанализировали данные о материнской смертности от послеродового сепсиса, распространённости послеродового мастита и послеродовых ИОХВ в разных странах мира.

Установлено, что наибольшие показатели материнской смертности были в странах с низким уровнем дохода (**табл. 1**), большинство которых находится в Африке (от 856 до 1360 на 100 тыс. живорождённых). В странах с высоким уровнем дохода показатель материнской смертности составлял 4 и менее на 100 тыс. живорождённых. Доля сепсиса в структуре материнской смертности варьировала от 7,7% в странах с высоким уровнем дохода до 9,7% в Африке. Результаты отдельных исследований свидетельствуют о том, что каждая вторая родильница в Азии погибает от послеродового сепсиса [6, 7, 9–12].

¹ GDP per capita, PPP (current international \$); 2020. Available at: <https://data.worldbank.org/indicator/NY.GDP.PCAP.PP.CD>

Таблица 1. Материнская смертность от послеродового сепсиса в странах с различным уровнем дохода на душу населения (на 100 тыс. живорождённых, %)**Table 1.** Maternal mortality from puerperal sepsis in countries with different per capita income levels (per 100,000 live births, %)

Страна, источник (источники) информации Country, source (sources) of information	Год (годы) исследования/год (годы) публикации Year (years) of research/year (years) of publication	Показатель материнской смертности, на 100 тыс. живорождённых Maternal mortality rate, per 100,000 live births	Доля сепсиса в структуре материнской смертности, % Percent of sepsis in the structure of maternal mortality, %	Примечание Footnote
Мировая статистика World statistics [6, 7]	2003–2009	–	11,0	Данные Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis Data from Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis
Российская Федерация Russian Federation [7, 8]	Начало 2000-х Early 2000s	44,2	Первое место в 1997 г. (21,7%), 6-е место в 2018 г. (7,5%) First place in 1997 (21.7%), 6 th place in 2018 (7.5%)	Рост в 2009 г. на 15% за счёт эпидемии гриппа, вызванного подтипом A/H1N1(sw) Growth in 2009 by 15% due to the influenza epidemic caused by the subtype A/H1N1 (sw)
	2008	22,6		
	2009	26,1		
	2015	10,1		
Страны с высоким уровнем дохода / High-income countries				
Австрия, Польша, Греция, Исландия, Италия и Швеция Austria, Poland, Greece, Iceland, Italy and Sweden [7]	2015	4 и менее 4 or less	–	
Нидерланды / Netherlands [9, 10]	2013	–	7,7–12,0*	*Летальность *Mortality
США / USA [11]	2013–2016	–	23,0	Сведения из национальной базы данных Information from the National Readmissions Database
Северная и Южная Америка North and South America [7, 12]	2001–2013, 2015	52	7,7	
Страны со средним уровнем дохода / Middle-income countries				
Азия / Asia [12]	2001–2013	–	11,6–50,0	
Южная Азия / South Asia [6]	2003–2012	–	13,7	
Страны с низким уровнем дохода / Low-income countries				
Африка / Africa [12]	2001–2013	856–1360	9,7	
Сьерра-Леоне / Sierra Leone [7]	2015	1360	–	
Центральноафриканская Республика Central African Republic [7]	2015	882	–	
Республика Чад Republic of Chad [7]	2015	856	–	
Африка к югу от Сахары Africa South of Sahara [6]	2003–2012	–	10,3*	*Материнская смертность от инфекций *Maternal mortality from infections

В России за 16-летний период (2000–2015 гг.) произошли существенные изменения динамики и структуры материнской смертности. Показатель материнской смертности снизился в 4,4 раза и составил 10,1 на 100 тыс. живорождённых. Сепсис в структуре материнской смертности перешёл с 1-го места в 1997 г. (21,7%) году на 6-е в 2018 г. (7,5%) [7, 8].

Результаты анализа публикаций по данной проблеме позволяют сделать вывод о влиянии уровня дохода как социально-экономического фактора на заболеваемость послеродовым сепсисом и его места в структуре причин материнской смертности.

Анализ распространённости послеродового мастита имеет существенные ограничения, т.к. в разных странах практикуется разный период наблюдения за родильницей. Так, согласно представленным данным, этот период может составлять 3 мес в США, 6 мес — в Австралии и 12 мес — в Новой Зеландии. В России период учёта и регистрации случаев послеродового мастита составляет 1 мес с момента родов. Примечательно, что с увеличением времени наблюдения возрастает и количество выявленных случаев. Так, доля послеродового мастита в структуре ГСИ родильниц в России составляет 3,0%, в США — 9,5%, в Австралии — 17,3%, в Новой Зеландии — 23,7% [13, 15].

Частота послеродового мастита в разных странах коррелирует с уровнем дохода населения (табл. 2). По данным ВОЗ, в странах с преимущественно высоким уровнем дохода на душу населения (Англия, Австралия, США, Финляндия) доля мастита в структуре ГСИ родильниц составляет 2–15%, но при этом существенно варьирует в каждой стране. Так, в Англии она составляла 4–15%, в Австралии — 4,9–50%, в США — 2,7–9%. В исследованиях, проведённых в Финляндии, послеродовой мастит был выявлен у 24% родильниц [14].

Исследований по распространённости послеродового мастита в странах со средним и низким уровнем дохода населения недостаточно. Так, в Турции частота мастита составляет 5,6%, в Гамбии (страна с низким уровнем дохода) — 2,6%, что, скорее, характеризует систему выявления случаев заболеваний, чем их отсутствие [14, 16].

В России, по данным официальной регистрации, частота послеродового мастита составляет 2–3% и существенно отличается от данных выборочных исследований, во время которых мастит был выявлен у каждой 10-й родильницы [13].

Послеродовые ИОХВ в зависимости от характера родоразрешения делятся на ИОХВ в области промежности и ИОХВ после кесарева сечения. Необходимо отметить, что подходы к их выявлению и регистрации в разных странах также существенно различаются (табл. 3).

Частота ИОХВ в области промежности даже в странах с высоким уровнем дохода существенно

различается. Так, в Канаде она составляет 0,76%, в США — 24,6%, в Нигерии — 23,7% [17]. ИОХВ после кесарева сечения в странах с высоким уровнем дохода составляли от 2,7% в Новой Шотландии до 9,5% в Саудовской Аравии [18]. В странах со средним уровнем дохода частота ИОХВ по отдельным странам различалась более чем в 3,3 раза.

Необходимо отметить, что в методических подходах к изучению распространённости ГСИ большая часть исследований имела существенные различия в продолжительности наблюдения после родов, стандартных определениях случая ГСИ, времени исследований. В части исследований были включены были отнесены «непоказательные» группы, т.е. лица, не входящие в популяцию риска, что требует организации целенаправленных исследований с устранением вышеперечисленных недостатков.

Факторы риска развития ГСИ в послеродовом периоде

Изучение факторов риска развития ГСИ родильниц является одним из активно развивающихся направлений госпитальной эпидемиологии. В табл. 4 представлены ведущие факторы риска ГСИ послеродового периода.

Для различных нозологических форм ГСИ родильниц характерны разные факторы риска их развития. В связи с этим представляется интересным рассмотреть наиболее значимые факторы риска по отдельным нозологиям.

Послеродовой сепсис и послеродовой перитонит. Одним из основных факторов риска развития послеродового сепсиса является оперативное вмешательство, которое всегда сопряжено с риском развития инфекционных осложнений [20]. Однако риск развития тех или иных осложнений зависит от экстренности оперативного вмешательства, его объёма и локализации. Так, по данным А. Алі и соавт. (2019), в развитии послеродового сепсиса выделены три основных вида оперативного вмешательства. Кесарево сечение по сравнению с вагинальным родоразрешением связано с увеличением риска инфекционных осложнений на 5–20%, при этом наибольший риск представляет кесарево сечение по неотложным показаниям, на 2-м месте — плановое и на 3-м — оперативное вагинальное родоразрешение [12, 21].

Послеродовой эндометрит. Наиболее часто эндометрит развивается после абдоминального родоразрешения, при этом в зависимости от экстренности операции частота инфекции может варьировать от 5 до 85%. После планового кесарева сечения она составляет 5–6%, а после экстренного — 25–85%. Основной причиной более высокого риска развития инфекционных осложнений после экстренного оперативного родоразрешения, по данным С.В. Барина и соавт. (2017), является дефи-

цит времени для предоперационной подготовки и санации очагов инфекции [42, 43]. В то же время отмечено, что частота инфекций родовых путей у пациенток из группы высокого инфекционного риска может достигать 60%, вне зависимости от вида родоразрешения [44].

Послеродовой мастит. Риски послеродового мастита зависят от продолжительности послеродового периода и процессов регуляции лактации.

В раннем послеродовом периоде лактостаза возникает из-за дисбаланса процессов молокопродукции и молокоотдачи. В течение 7–8 дней после родов преобладает эндокринный механизм регуляции лактации за счёт таких гормонов, как пролактин и окситоцин, в связи с чем в этот период наиболее значимыми факторами риска являются неправильная техника прикладывания ребёнка к груди, редкие кормления, трещины сосков, вялое сосание

Таблица 2. Распространённость послеродового мастита в странах с различным уровнем дохода на душу населения (%)

Table 2. Prevalence of puerperal mastitis in countries with different per capita income levels (%)

Страна, источник информации The country, the source of information	Годы исследования/ годы публикации Years of research/ years of publication	Частота послеродового мастита, % Postpartum mastitis rate, %	Примечание Footnote
Россия Russian Federation [13]	2011	2–3,0* 10,0**	*По официальным данным **По результатам выборочного обследования репродуктивного здоровья 10 тыс. российских женщин, проведённого в 2011 г. *Official data **According to the results of a sample survey of reproductive health of 10,000 Russian women, conducted in 2011
Страны с высоким уровнем дохода / High-income countries			
Англия / England [14]	1989 1996	4,0 15,0	Данные ВОЗ. Большинство проведённых исследований различаются в сроках наблюдения от момента родов, стандартах определения случая заболевания и имеют значительные методологические ограничения WHO data. Most of the studies carried out differ in terms of follow-up from the moment of delivery, standards for determining the case of the disease and have significant methodological limitations
Австралия / Australia [14]	1995 1991	4,9 50,0	
США / USA [14]	1975 1994	2,7 9,0	
Финляндия / Finland [14]	1994	24,0	
США / USA [15]	2002	9,5	Наблюдение в течение 3 мес после родов Observation within 3 months after childbirth
Новая Зеландия New Zealand [15]	1999	23,7	Наблюдение в течение 12 мес после родов Observation within 12 months after childbirth
Шотландская когорта Scottish cohort [15]	2004–2005	18,0	Наблюдение в течение 6 мес после родов Observation within 6 months after childbirth
Австралия / Australia [15]	2007	17,3	Наблюдение в течение 6 мес после родов Observation within 6 months after childbirth
Страны со средним уровнем дохода / Middle-income countries			
Турция / Turkey [16]	2000–2017	5,6	По данным систематического обзора публикаций, посвящённых проблеме послеродового мастита, в Турции (2000–2015 гг.) и в других странах (2008–2017 гг.) According to a systematic review of publications on the problem of postpartum mastitis in Turkey (from 2000 to 2015) and in other countries (from 2008 to 2017)
Страны с низким уровнем дохода / Low-income countries			
Гамбия Republic of The Gambia [14]	1985	2,6	Данные ВОЗ. Большинство проведённых исследований различаются в сроках наблюдения от момента родов, способах определения случая заболевания и имеют значительные методологические ограничения WHO data. Most of the studies carried out differ in terms of observation from the moment of delivery, methods of determining the case of the disease, and have significant methodological limitations

новорождённого или отказ от грудного вскармливания [45].

Доказано отрицательное влияние абдоминального родоразрешения (кесарева сечения) на эндокринный механизм регуляции лактации. Эпидуральная анестезия и, как правило, невозможность

прикладывания новорождённого к груди сразу после операции приводят к снижению синтеза окситоцина и угнетению окситоцинового рефлекса. Это приводит к нарушению лактации. На вторую стадию лактогенеза влияют высокий уровень кортизола и замедленный процесс отслойки плаценты.

Таблица 3. Распространённость послеродовых ИОХВ в странах с различным уровнем дохода на душу населения
Table 3. Prevalence of postpartum surgical site infections in countries with different per capita income levels

Страна, источник информации The country, the source of information	Годы исследования/ годы информации Years of research/ years of information	Частота ИОХВ в области промежности, % Surgical site infections frequency in the perineal region, %	Частота ИОХВ после кесарева сечения, % SSI frequency after cesarean section, %	Примечание Footnote
Страны с высоким уровнем дохода / High-income countries				
Канада / Canada [17]	По состоянию на сентябрь 2018 As of September 2018	0,76	–	По данным систематического обзора публикаций According to a systematic review of publications
Великобритания Great Britain [17]		0,24–11,83	–	
США / USA [17]		0,3–24,6	5,5	
Норвегия / Norway [17]		9,4	–	
Гонконг / Hong Kong [17]		0,2	–	
Саудовская Аравия Saudi Arabia [18]	1992	–	9,5	
Новая Шотландия New Scotland [18]	1997–2012	–	2,7	База данных по случаям инфекций у родильниц перинатального центра за 15 лет Database on cases of infections in women in puerperas of the perinatal center for 15 years
Страны со средним уровнем дохода / Middle-income countries				
Нигерия Federal Republic of Nigeria [17]	По состоянию на сентябрь 2018 As of September 2018	5,7–23,7	–	По данным систематического обзора публикаций According to a systematic review of publications
Китай / China [17]		2,5	–	
Танзания United Republic of Tanzania [18]	2016	–	До 48,0 Up to 48.0	
Бразилия / Brazil [18]	2010	–	23,5	
Малайзия / Malaysia [18]	2017	–	18,8	
Иордания Hashemite Kingdom of Jordan [18]	2017	–	14,4	
Страны с низким уровнем дохода / Low-income countries				
Африка к югу от Сахары Africa South of Sahara [19]	2019	–	10,3*	*Уровень инфицированных ран после кесарева сечения *The level of infected wounds after cesarean section

Таблица 4. Ведущие факторы риска ГСИ послеродового периода за 2000–2020 гг.**Table 4.** Leading risk factors for PSI in the postpartum period, 2000–2020

Нозология Nosology	Годы исследования/ публикации, источники информации Years of research/ publication, sources of information	Ведущие факторы риска Leading risk factors	OR/RR (95% довери- тельный интервал), источники информации OR/RR (95% confidence interval), sources of information
Послеродовой сепсис и послеродовой перитонит Postpartum sepsis and postpartum peritonitis	2019 [20–22]	Кесарево сечение: / Cesarean section: • экстренное / emergency; • плановое / planned	OR 1,39 (1,11–1,75) [22] OR 4,71 (4,08–5,43) [22]
	2008, 2015 [10, 23]	Акушерские: • разрывы промежности III–IV степени • мастит; • дородовое излитие околоплодных вод; • хориоамнионит. Неакушерские: • инфекционные заболевания (внебольничная пневмония, инфекции почек и мочевыводящих путей, менингит); • неотложные хирургические состояния (аппендицит, холецистит); • социально значимые заболевания (ВИЧ/СПИД, туберкулёз); • ожирение Obstetric: • rupture of the perineum III–IV degree; • mastitis; • prenatal rupture of amniotic fluid; • chorioamnionitis. Not obstetric: • infectious diseases (community-acquired pneumonia, kidney and urinary tract infections, meningitis); • urgent surgical conditions (appendicitis, cholecystitis); • socially significant diseases (HIV/AIDS, tuberculosis); • obesity	В анализируемых источниках OR/RR (95% ДИ) не были представлены In the analyzed sources OR/RR (95% CI) were not presented
Послеродовой эндометрит Postpartum endometritis	2016, 2017, 2020 [24–26]	Материнские модифицируемые: • курение; • низкий уровень гигиены; • отказ от грудного вскармливания, сопровождающийся снижением сократительной способности матки. Материнские немодифицируемые: • перенесённые заболевания в анамнезе, особенно диабет и анемия; • иммунная недостаточность, в том числе ВИЧ-инфекция; • ожирение/увеличение индекса массы тела; • дисбиотические и воспалительные заболевания нижних отделов родовых путей, в том числе бактериальный вагиноз; • колонизация родовых путей <i>Streptococcus</i> group B, <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> или <i>Gardnerella vaginalis</i> , массивное обсеменение влагалища <i>Streptococcus agalactiae</i> или <i>Escherichia coli</i> , носительство <i>Staphylococcus aureus</i> или обсеменение им экстрагенитальных органов; • увеличение возраста матери и в то же время молодой возраст; • низкий социально-экономический статус; • доступность медицинской помощи. Родовые модифицируемые: • частые вагинальные осмотры; • техника операции; • оперативное родоразрешение (в зависимости от метода родоразрешения и этапа родов). Родовые немодифицируемые: • длительный безводный период; • затяжные роды; • внутренний мониторинг за состоянием плода; • остатки плацентарной ткани в матке; • хориоамнионит; • послеродовая гематома; • послеродовое кровотечение;	В анализируемых источниках OR/RR (95% ДИ) не были представлены In the analyzed sources OR/RR (95% CI) were not presented

Продолжение табл. 4
 Continuation of Table 4

Нозология Nosology	Годы исследования/ публикации, источники информации Years of research/ publication, sources of information	Ведущие факторы риска Leading risk factors	OR/RR (95% довери- тельный интервал), источники информации OR/RR (95% confidence interval), sources of information
		<ul style="list-style-type: none"> • травматизм в родах (наличие раневой поверхности в матке после отделения последа, разрывы шейки матки и промежности); • обильная мекониальная насыщенность околоплодных вод; • снижение иммунитета родильницы в сочетании с кровопотерей в родах; • преждевременные роды, переношенная беременность; • исследование плода или полости матки, мануальное удаление плаценты; • вакуум-экстракция плода <p>Maternal modifiable:</p> <ul style="list-style-type: none"> • smoking; • poor hygiene; • refusal of breastfeeding, accompanied by a decrease in the contractility of the uterus. <p>Maternal unmodifiable:</p> <ul style="list-style-type: none"> • past medical history, especially diabetes and anemia immune deficiency, including HIV infection; • obesity/increased BMI; • dysbiotic and inflammatory diseases of the lower parts of the birth canal, incl. bacterial vaginosis; • colonization of the birth canal by <i>Streptococcus group B</i>, <i>Chlamydia trachomatis</i>, <i>Mycoplasma hominis</i>, <i>Ureaplasma urealyticum</i> or <i>Gardnerella vaginalis</i>, massive seeding of the vagina with <i>Streptococcus agalactiae</i> or <i>Escherichia coli</i>, carriage of <i>Staphylococcus aureus</i> or extragenital organs by them; • an increase in the mother's age, and at the same time a young age; • low socioeconomic status; • availability of medical care. <p>Generic modifiable:</p> <ul style="list-style-type: none"> • frequent vaginal examinations; • surgical technique; • operative delivery (depending on the method of delivery and stage of labor). <p>Generic not modifiable:</p> <ul style="list-style-type: none"> • long dry period prolonged labor; • internal monitoring of the fetus; • remnants of placental tissue in the uterus; • chorioamnionitis; • postpartum hematoma; • postpartum hemorrhage; • traumatism during childbirth (the presence of a wound surface in the uterus after separation of the placenta, ruptures of the cervix and perineum); • abundant meconium saturation of amniotic fluid; • decreased immunity of the postpartum woman, in combination with blood loss during childbirth; • premature birth, post-term pregnancy; • examination of the fetus or uterine cavity, manual removal of the placenta; • vacuum extraction of the fetus 	
	2019 [27]	Соматотип женщины Somatotype of a woman	В анализируемых источниках OR/RR (95% ДИ) не были представлены In the analyzed sources OR/RR (95% CI) were not presented
Послеродовой мастит Postpartum mastitis	2014, 2015, 2019 [28–30]	Лактостаз / Lactostasis Кесарево сечение / Cesarean section	OR 2,77 (1,70–4,49) [30] OR 1,70 (1,01–2,86) [30]

Продолжение табл. 4

Continuation of Table 4

Нозология Nosology	Годы исследования/ публикации, источники информации Years of research/ publication, sources of information	Ведущие факторы риска Leading risk factors	OR/RR (95% довери- тельный интервал), источники информации OR/RR (95% confidence interval), sources of information
		Аномалии развития сосков (плоские, втянутые, добавочные) Nipple malformations (flat, inverted, accessory)	В анализируемых источ- никах OR/RR (95% ДИ) не были представлены In the analyzed sources OR/RR (95% CI) were not presented
		Пластика молочных желёз, хирургические операции на молочных железах Breast plastic surgery, breast surgery	OR 1,86 (0,62–5,60) [30]
		Наличие хронических очагов инфекции в горле The presence of chronic foci of infection in the throat	OR 2,05 (1,10–3,80) [30]
		Инфекции мочевыводящих путей Urinary tract infections	OR 1,77 (1,04–3,01) [30]
		Использование молокоотсоса Using a breast pump	OR 2,78 (1,68–4,58) [30]
		Трещины сосков / Cracked nipples	OR 1,43 (1,23–1,67) [30]
		Проблемы с захватом соска у младенца Problems with gripping the nipple in an infant	OR 2,68 (1,62–4,44) [30]
		Отказ от очередного сеанса грудного вскармливания Refusal of the next breastfeeding session	OR 4,70 (0,60–36,80) [30]
		Случаи мастита в семье (в анамнезе) Family history of mastitis	OR 2,28 (1,26–4,13) [30]
		Мастит в анамнезе после предыдущих родов A history of mastitis after a previous birth	OR 3,91 (1,60–9,56) [30]
		Отделение ребёнка от матери более чем на 24 ч после рождения Separation of the baby from the mother more than 24 hours after birth	OR 6,40 (1,77–23,18) [30]
		Анемия / Anemia	OR 2,25 (1,17–4,32) [30]
		Использование антибиотиков в период грудного вскармливания Antibiotic use during breastfeeding	OR 5,38 (2,85–10,14) [30]
		Трещины сосков / Cracked nipples	OR 1,43 (1,23–1,67) [30]
		Первородение / First birth	OR 1,63 (1,10–2,43) [30]
2015, 2020 [29, 31]	Возраст 32–34 года / Age 32–34 years	В анализируемых источ- никах OR/RR (95% ДИ) не были представлены In the analyzed sources OR/RR (95% CI) were not presented	
2000, 2014, 2018 [14, 30, 32]	Осложнения в родах / Complications in childbirth	В анализируемых источ- никах OR/RR (95% ДИ) не были представлены In the analyzed sources OR/RR (95% CI) were not presented	
	Травматизация сосков молочной железы Trauma to the nipples of the mammary gland	OR 5,59 (3,096–10,108)	
2007 [33]	Увеличение вирусной нагрузки у ВИЧ-инфицированных женщин в грудном молоке Increased viral load in breast milk in HIV-infected women	В анализируемых источ- никах OR/RR (95% ДИ) не были представлены In the analyzed sources OR/RR (95% CI) were not presented	
Послеродовые ИОХВ Postpartum surgical site infections (SSI)	2000, 2007, 2015, 2017, 2018 [10, 34–39]	Сахарный диабет / Diabetes	OR 3,7 (1,8–7,7) [38]
		Преэклампсия / Preeclampsia	OR 2,3 (1,1–4,9) [37]
		Наличие кесарева сечения в анамнезе History of cesarean section	1,3 [35]
		Табакокурение во время беременности Smoking during pregnancy	5,3 [35]

Окончание табл. 4
 End of Table 4

Нозология Nosology	Годы исследования/ публикации, источники информации Years of research/ publication, sources of information	Ведущие факторы риска Leading risk factors	OR/RR (95% довери- тельный интервал), источники информации OR/RR (95% confidence interval), sources of information
		Наличие очага инфекции в организме женщины до операции The presence of a focus of infection in a woman's body before surgery	OR 16,5 (2,1–128,3) [37]
		Экстренный характер кесарева сечения Emergency caesarean section	OR 1,39 (1,11–1,75) [10]
		Продолжительность родов более 12 ч и длительный второй период родов The duration of labor is more than 12 hours and a long second stage of labor	2,0 [35]
		Отсутствие периперационной антибиотикопрофилактики Lack of perioperative antibiotic prophylaxis	OR 2,63 (1,50–4,6) [10]
		Увеличение длины разреза промежности Increase in the length of the crotch incision	4,9 [35]
		Значительная кровопотеря Significant blood loss	OR 1,3 (1,1–1,5) на каждые 100 мл OR 1.3 (1.1–1.5) for every 100 ml [37]
		Хориоамнионит / Chorioamnionitis	OR 10,6, (2,1–54,2) [37]
		Избыточная масса тела / Overweight	OR 2,0 (1,3–3,0) [37] OR 2,8 (1,3–6,2) [39]
		Частые влагалищные исследования (свыше 7) во время родов Frequent vaginal examinations (over 7) during childbirth	OR 1,9, (1,2–3,1) [10]
2019, 2020 [40, 41]		Анемия лёгкой степени Mild anemia	OR 2,80 (1,03–7,64) [40]
		Умеренная анемия Moderate anemia	OR 2,71 (1,00–7,31) [40]

В результате удлиняются сроки становления лактационной функции и сокращается период лактации [46].

При аутокринном механизме регуляции, когда молоко секретируется по требованию, на первый план выходят ошибки грудного вскармливания, способствующие неэффективному сосанию, застою и прекращению секреции молока.

Послеродовые ИОХВ. Факторы риска развития ИОХВ после абдоминального родоразрешения и эпизиотомии достаточно разнообразны и находятся в прямой зависимости от наличия микробной контаминации операционного поля, количества микробного агента, а также продолжительности оперативного вмешательства и качества шовного материала [34, 35, 47].

Немаловажную роль в увеличении рисков инфицирования послеоперационной раны играет такое состояние беременной, как анемия, которая в настоящее время рассматривается в качестве одной из ведущих причин осложнённого течения беременности. Низкий уровень гемоглобина приводит к снижению напряжения кислорода и уменьшению

синтеза коллагена. Такая ситуация, наряду со снижением активности макрофагов, способствует формированию менее стабильного рубца, склонного к расхождению и инфицированию [40, 41].

Говоря об избыточной массе тела, стоит отметить тот факт, что у таких рожениц имеет место более высокая контаминация кожи предполагаемого места разреза с меньшим микробиологическим разнообразием микробиоты, которое характеризуется преобладанием представителей грамположительных спорообразующих бактерий [36].

Эпидемиологический надзор за ГСИ послеродового периода

В разных странах системы эпидемиологического надзора имеют различные варианты реализации его подсистем.

В большинстве стран выявление случаев инфекций послеродового периода осуществляется преимущественно только во время пребывания роженицы в акушерском стационаре, при этом отсутствует набор стандартных критериев, позволяющих сделать вывод о наличии или отсутствии ГСИ [48].

Проблема учёта случаев материнской смертности, в том числе от послеродового сепсиса, характерна для Индонезии по причине отсутствия системы регистрации актов гражданского состояния [49].

В Норвегии 3-летняя система эпидемиологического надзора за ИОХВ после кесарева сечения подразумевала расчёт показателя заболеваемости на количество женщин, прошедших наблюдение после выписки [50].

В США в рамках деятельности Национальной сети безопасности здравоохранения Центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC National Healthcare Safety Network) под целенаправленный эпидемиологический надзор попадают такие нозологические формы инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), как катетер-ассоциированные инфекции кровотока, катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей, ИОХВ и вентилятор-ассоциированная пневмония².

В России, несмотря на строительство новых перинатальных центров, успешное внедрение в работу акушерских стационаров ряда современных акушерских и эпидемиологических практик, проблема ГСИ послеродового периода сохраняет свою актуальность. Реализуемая в настоящее время система эпидемиологического надзора за ГСИ родильниц основана на оперативном и ретроспективном анализе официально зарегистрированных случаев заболеваний. При отсутствии регистрации рутинных случаев заболеваний складывается ложное впечатление об эпидемиологическом благополучии, на фоне которого «неожиданно» возникают вспышки инфекций в роддомах и перинатальных центрах.

Российскими учёными и практиками уже предпринимались попытки модернизировать систему эпидемиологического надзора за ИСМП и сформировать основные предпосылки и предвестники осложнения эпидемиологической обстановки при внутрибольничных ГСИ на основе данных об экзогенных и эндогенных факторах риска, связанных с пациентом (наличие сопутствующей инфекционной и соматической патологии), характером реализуемых медицинских технологий, особенностью эксплуатации зданий больниц [51–55]. Такой подход был успешен в отдельных медицинских организациях, но не позволял проводить оценку стратифицированных факторов риска по разным клиникам и регионам страны.

В последнее время изменился подход к оценке факторов риска развития послеродовых заболеваний, перечень которых значительно расширился и включает в себя социальные факторы (раннее начало половой жизни, наличие неполной семьи, незарегистрированные брачные отношения, своевремен-

ность постановки на учёт и регулярность посещения женской консультации во время беременности и др.), факторы, связанные со здоровьем женщины вообще, в том числе во время беременности и родов (наличие инфекционной и соматической патологии, признаки нарушения плацентарного кровообращения, продолжительность безводного периода и объём кровопотери, наличие разрывов мягких тканей родовых путей и др.), а также особенности организации и оказания акушерской помощи в регионе (факт длительной дородовой госпитализации, частота применения инвазивных методов обследования и родоразрешения, раздельное пребывание матери и ребёнка в послеродовом периоде, длительное пребывание в послеродовом отделении и пр.) [30, 32, 56–60]. Однако эти показатели до настоящего времени не нашли применения в информационной подсистеме эпидемиологического надзора за ГСИ родильниц.

В качестве прогностических параметров, влияющих на оценку эпидемиологической ситуации в акушерском стационаре, определены в основном индивидуальные (личностные) факторы риска развития ГСИ у родильницы, такие как хориоамнионит в родах, длительный безводный период, хронические соматические и инфекционные заболевания, болезни мочеполовой системы, отягощённый акушерско-гинекологический анамнез и т.п. [61, 62]. При этом при формировании эпидемического неблагополучия в полной мере не проведена оценка роли донозологических форм послеродовых состояний (гематометра, лохиометра, субинволюция матки, лактостаз и др.), которые могут быть предвестниками эпидемического неблагополучия в роддоме [55, 63, 64]. По-прежнему в качестве предвестников осложнения эпидемиологической ситуации по ГСИ родильниц регламентирован только рост числа случаев ГСИ, что не даёт возможности оперативно оценить ситуацию, провести предэпидемическую диагностику, поставить правильный эпидемиологический диагноз и своевременно организовать и провести противоэпидемические мероприятия. Такая эпидемиологическая практика, реализуемая в большинстве субъектов РФ, негативно сказывается на качестве клинической и эпидемиологической диагностики ГСИ родильниц, не позволяет своевременно выявить признаки активизации эпидемического процесса в акушерских стационарах.

Таким образом, существующая система эпидемиологического надзора за ГСИ родильниц не удовлетворяет потребностям как эпидемиологов и клиницистов медицинских организаций, так и специалистов органов и организаций Роспотребнадзора. Необходимо полностью реформатировать информационную подсистему и подсистему эпидемиологической диагностики, ориентируя их на сбор расширенных информационных параметров и предэпидемическую диагностику.

² CDC NHSN. Types of Infections.
Available at: <https://www.cdc.gov/hai/infectiontypes.html>

ЛИТЕРАТУРА

1. Хаггард Г. *От знахаря до врача. История науки врачевания*. Пер. с англ. М.: Центрполиграф; 2012.
2. Loudon I. Ignaz Phillip Semmelweis' studies of death in child-birth. *J. R. Soc. Med.* 2013; 106(11): 461–3. <https://doi.org/10.1177/0141076813507844>
3. Моргошия Т.Ш., Сыроежин Н.А. У истоков антисептики: жизненный путь легендарного профессора Игнаца Земмельвейса (1818-1865). К 200-летию со дня рождения. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2018; 18(3): 104–8. <https://doi.org/10.17116/rosakush2018182104-108>
4. Смирнова С.С., Голубкова А.А., Алимов А.В., Акимкин В.Г. Внутриутробные инфекции новорожденных как маркер эпидемического неблагополучия в учреждениях родовспоможения. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2019; 18(5): 42–9. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-42-49>
5. Найговзина Н.Б., Попова А.Ю., Бирюкова Е.Е., Ежлова Е.Б., Игонина Е.П., Покровский В.И. и соавт. Оптимизация системы мер борьбы и профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в Российской Федерации. *ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучения. Вестник ВШОУЗ*. 2018; (1): 17–26.
6. Say L., Chou D., Gemmill A., Tunçalp Ö., Moller A.B., Daniels J., et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet Glob. Health.* 2014; 2(6): e323–33. [https://doi.org/10.1016/s2214-109x\(14\)70227-x](https://doi.org/10.1016/s2214-109x(14)70227-x)
7. Радзинский В.Е. *Акушерская агрессия, в. 2.0*. М.; 2017.
8. Паршина А.Ю. Определение структуры материнской смертности в Российской Федерации с применением статистического анализа. *Социосфера*. 2020; (1): 131–5.
9. Bonet M., Souza J.P., Abalos E., Fawole B., Knight M., Kouanda S., et al. The global maternal sepsis study and awareness campaign (GLOSS): Study protocol. *Reprod. Health.* 2018; 15(1): 16. <https://doi.org/10.1186/s12978-017-0437-8>
10. Девятова Е.А. Акушерский сепсис. *Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение*. 2015; (3): 33–44.
11. Hensley M.K., Bauer M.E., Admon L.K., Prescott H.C. Incidence of maternal sepsis and sepsis-related maternal deaths in the United States. *JAMA.* 2019; 322(9): 890–2. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.9818>
12. Ali A., Lamont R.F. Recent advances in the diagnosis and management of sepsis in pregnancy. *F1000Res.* 2019; 8: F1000. <https://doi.org/10.12688/f1000research.18736.1>
13. Пустотина О.А. Опыт лечения лактационного мастита у 642 родильниц в России. Сравнительный анализ с международными рекомендациями. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева*. 2015; 2(2): 42–7.
14. ВОЗ. *Мастит. Причины и ведение*. Женева; 2000.
15. Khanal V., Scott J.A., Lee A.H., Binns C.W. Incidence of Mastitis in the Neonatal Period in a Traditional Breastfeeding Society: Results of a Cohort Study. *Breastfeed. Med.* 2015; 10(10): 481–7. <https://doi.org/10.1089/bfm.2015.0080>
16. Karaçam Z., Sağlık M. Breastfeeding problems and interventions performed on problems: Systematic review based on studies made in Turkey. *Turk Pediatri Ars.* 2018; 53(3): 134–48. <https://doi.org/10.5152/turkpediatriars.2018.6350>
17. Jones K., Webb S., Manresa M., Hodgetts-Morton V., Morris R.K. The incidence of wound infection and dehiscence following childbirth-related perineal trauma: A systematic review of the evidence. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2019; 240: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.05.038>
18. Zejnullahu V.A., Isjanovska R., Sejfića Z., Zejnullahu V.A. Surgical site infections after cesarean sections at the University Clinical Center of Kosovo: Rates, microbiological profile and risk factors. *BMC Infect. Dis.* 2019; 19(1): 752. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4383-7>
19. Sway A., Nthumba P., Solomkin J., Tarchini G., Gibbs R., Ren Y., et al. Burden of surgical site infection following cesarean section in sub-Saharan Africa: a narrative review. *Int. J. Womens Health.* 2019; 11: 309–18. <https://doi.org/10.2147/ijwh.s182362>
20. Иванников Н.Ю., Митичкин А.Е., Димитрова В.И., Слюсарева О.А., Хлынова С.А., Доброхотова Ю.Э. Современные подходы в лечении послеродовых гнойно-септических заболеваний. *Медицинский совет*. 2019; (7): 58–69. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-7-58-69>
21. Обоскалова Т.А., Глухов Е.Ю., Харитонов А.Н. Динамика и структура инфекционно-воспалительных заболеваний позднего послеродового периода. *Уральский медицинский журнал*. 2016; (5): 5–9.
22. Conroy K., Koenig A.F., Yu Y.H., Courtney A., Lee H.J., Norwitz E.R. Infectious morbidity after cesarean delivery: 10 strategies to reduce risk. *Rev. Obstet. Gynecol.* 2012; 5(2): 69–77.
23. Castro E.O., Bortolotto M.R.F.L., Zugaib M. Sepsis e choque séptico na gestação: manejo clínico. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2008; 30(12): 631–8.
24. Каримова Г.Н. *Совершенствование клинико-лабораторных подходов к прогнозированию, диагностике и тактике лечения послеродового эндометрита*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2017.
25. Докудаева Ш.А. Современные представления об этиологии, патогенезе, клинике и диагностике послеродового эндометрита. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2016; 11(4): 109–15.
26. Taylor M., Pillarisetty L.S. *Endometritis*. Treasure Island (FL); 2020.
27. Томаева К.Г., Гайдуков С.Н., Комиссарова Е.Н. Частота встречаемости послеродового эндометрита у женщин с разными соматотипами. *Вестник новых медицинских технологий*. 2019; 26(3): 9–13. <https://doi.org/10.24411/1609-2163-2019-16400>
28. Балущкина А.А., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Пустотина О.А., Москалева Г.В. Новые тенденции в профилактике и лечении послеродового мастита и лактостаза. *Медицинский совет*. 2019; (12): 136–41. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-12-136-141>
29. Cullinane M., Amir L.H., Donath S.M., Garland S.M., Tabrizi S.N., Payne M.S., et al. Determinants of mastitis in women in the CASTLE study: A cohort study. *BMC Fam. Pract.* 2015; 16: 181. <https://doi.org/10.1186/s12875-015-0396-5>
30. Mediano P., Fernández L., Rodríguez J.M., Marín M. Case-control study of risk factors for infectious mastitis in Spanish breastfeeding women. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2014; 14: 195. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-14-195>
31. Blackmon M.M., Nguyen H., Mukherji P. *Acute Mastitis*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
32. Yu Z., Sun S., Zhang Y. High-risk factors for suppurative mastitis in lactating women. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24: 4192–7. <https://doi.org/10.12659/msm.909394>
33. De Allegri M., Sarker M., Hofmann J., Sanon M., Böhrer T. A qualitative investigation into knowledge, beliefs, and practices surrounding mastitis in sub-Saharan Africa: What implications for vertical transmission of HIV? *BMC Public Health.* 2007; 7: 22. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-22>
34. Suarez-Easton S., Zafran N., Garmi G., Salim R. Postcesarean wound infection: prevalence, impact, prevention, and management challenges. *Int. J. Womens Health.* 2017; 9: 81–8. <https://doi.org/10.2147/ijwh.s98876>
35. Kawakita T., Landy H.J. Surgical site infections after cesarean delivery: epidemiology, prevention and treatment. *Matern. Health Neonatol. Perinatol.* 2017; 3: 12. <https://doi.org/10.1186/s40748-017-0051-3>
36. Rood K.M., Buhimschi I.A., Jurcisek J.A., Summerfield T.L., Zhao G., Ackerman W.E., et al. Skin microbiota in obese wo-

- men at risk for surgical site infection after cesarean delivery. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 8756. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27134-5>
37. Tran T.S., Jamulitrat S., Chongsuvivatwong V., Geater A. Risk factors for postcesarean surgical site infection. *Obstet. Gynecol.* 2000; 95(3): 367–71. [https://doi.org/10.1016/s0029-7844\(99\)00540-2](https://doi.org/10.1016/s0029-7844(99)00540-2)
 38. Takouides T.C., Weitzen S., Slocum J., Malee M. Risk of cesarean wound complications in diabetic gestations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004; 191(3): 958–63. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.05.063>
 39. Opøien H.K., Valbø A., Grinde-Andersen A., Walberg M. Post-cesarean surgical site infections according to CDC standards: rates and risk factors. A prospective cohort study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2007; 86(9): 1097–102. <https://doi.org/10.1080/00016340701515225>
 40. Yerba K., Failoc-Rojas V., Zeña-Nañez S., Valladares-Garrido M. Factors associated with surgical site infection in post-cesarean section: a case-control study in a Peruvian hospital. *Ethiop. J. Health Sci.* 2020; 30(1): 95–100. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v30i1.12>
 41. Моисеева К.Е., Шевцова К.Г., Березкина Е.Н., Харбеда Ш.Д. Анемия беременных как медико-социальная проблема. *Бюллетень науки и практики.* 2019; 5(1): 103–10. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2539588>
 42. Куперт М.А. *Эндометрит после родов в современном акушерстве*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Челябинск; 2006.
 43. Баринов С.В., Блауман Е.С., Тирская Ю.И., Шкабарня Л.Л., Попова Л.Д., Медяникова И.В. Факторы риска развития и особенности течения послеродового эндометрита. *Мать и дитя в Кузбассе.* 2017; (2): 22–8.
 44. Самойлова Т.Е., Кохно Н.И., Докудаева Ш.А. Микробные ассоциации при послеродовом эндометрите. *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение.* 2018; 2(10): 6–13.
 45. Захарова И.Н., Кучина А.Е., Бережная И.В., Санникова Т.Н. Мастит и/или лактозаст? Как отличить? Чем помочь? Как лечить? *Медицинский совет.* 2019; (11): 10–5. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-11-10-15>
 46. Захарова И.Н., Бережная И.В., Санникова Т.Н., Малкандуева Ж.Х., Кучина А.Е., Сазанова Ю.О. и соавт. Кесарево сечение и проблемы лактации у женщин. *Медицинский совет.* 2018; (17): 22–9. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-17-22-29>
 47. Tkatchenko R.A., Kaminski V.V. Postoperative infections in obstetrics and gynecology: prevention, diagnosis and treatment. *Акушерство. Гінекологія. Генетика.* 2017; 3(1): 54–65. (in Ukrainian)
 48. Yokoe D.S., Christiansen C.L., Johnson R., Sands K.E., Livingston J., Shtatland E.S., et al. Epidemiology of and surveillance for postpartum infections. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(5): 837–41. <https://doi.org/10.3201/eid0705.010511>
 49. Qomariyah S.N. *A community-based surveillance system for maternal deaths in Indonesia*: Diss. Aberdeen; 2013.
 50. Eriksen H.M., Saether A.R., Lower H.L., Vangen S., Hjetland R., Lundmark H., et al. Infections after caesarean sections. *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* 2009; 129(7): 618–22. <https://doi.org/10.4045/tidsskr.09.24093> (in Norwegian)
 51. Покровский В.И., Семин Н.А., Ковалева Е.П., Акимкин В.Г. Проблемы и перспективы борьбы с внутрибольничными инфекциями в России. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2007; (1): 5–8.
 52. Ковалева Е.П., Заргарьянц А.И. Принципы борьбы с внутрибольничными инфекциями и их профилактики в родовспомогательных учреждениях (Предложения к проекту новых санитарно-эпидемиологических правил). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2010; (2): 46–50.
 53. Любимова А.В., Техова И.Г., Осмирко Т.В., Шаляпина Н.А. Эпидемиологический надзор за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи, в учреждениях родовспоможения. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2014; (1): 15–8.
 54. Зуева Л.П., Асланов Б.И., Васильев К.Д., Иванова Т.Г., Высоцкий В.С. Эпидемиологическая диагностика—основной ориентированных технологий профилактики госпитальных инфекций. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2017; 16(5): 69–74.
 55. Сергеев В.И., Ключарева Н.М. Предэпидемическая диагностика заболеваемости внутрибольничными гнойно-септическими инфекциями. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО.* 2018; (1): 27–9. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2018-298-1-2>
 56. Горин В.С., Матвеева И.В., Попова Ж.Ю., Кугушев А.В., Сагинор М.Е. Клинико-микробиологические особенности пуэрперального эндометрита, диагностика и лечение. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск).* 2011; 101(2): 9–16.
 57. Carroli G., Mignini L. Episiotomy for vaginal birth. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014; (1): CD000081. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd000081.pub2>
 58. Баринов С.В., Блауман Е.С., Тирская Ю.И., Шкабарня Л.Л., Попова Л.Д., Медяникова И.В. Факторы риска развития и особенности течения послеродового эндометрита. *Мать и дитя в Кузбассе.* 2017; (2): 22–8.
 59. Агарев А.Е., Здольник Т.Д. Прогнозирование развития инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи у родильниц в родовспомогательном учреждении второго уровня. В кн.: *Социально-гигиенический мониторинг здоровья населения: Материалы к 22-й Всероссийской научно-практической конференции с Международным участием.* Рязань; 2018: 196–202.
 60. Верес И.А., Белько В.И. Исследование факторов риска и разработка прогнозирования возникновения послеродового гипотонического и инфекционного эндометрита. *Военная медицина.* 2018; (4): 77–86.
 61. Анохова Л.И., Белокриницкая Т.Е., Патеюк А.В., Кохан С.Т. Послеродовый эндометрит и его профилактика (обзор литературы). *Научное обозрение. Медицинские науки.* 2016; (4): 6–13.
 62. Адамян Л.В., Артымук Н.В., Белокриницкая Т.Е., Гельфанд Б.Р., Куликов А.В., Кан Н.Е. и соавт. *Септические осложнения в акушерстве: Клинические рекомендации (протокол лечения).* М.; 2017.
 63. Ахметова Ж.С., Ибаева Р.А., Слета Г.В. Гематометра как осложнение после оперативного родоразрешения. В кн.: *Неделя науки – 2016: Материалы Всероссийского молодежного форума с международным участием.* Ставрополь; 2016: 5–6.
 64. Агарев А.Е., Здольник Т.Д., Коваленко М.С. Факторы риска развития донозологических и нозологических форм инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, у родильниц. *Пермский медицинский журнал.* 2019; 36(5): 76–82. <https://doi.org/10.17816/pmj36576-82>

REFERENCES

1. Haggard H.W. *From Medicine Man to Doctor: The Story of the Science of Healing.* North Chelmsford, Massachusetts: Courier Corporation; 2004.
2. Loudon I. Ignaz Phillip Semmelweis' studies of death in childbirth. *J. R. Soc. Med.* 2013; 106(11): 461–3. <https://doi.org/10.1177/0141076813507844>
3. Morgoshiya T.Sh., Syroezhin N.A. At the origins of antiseptics: the life of legendary professor Ignaz Semmelweis (1818-1865). On the occasion of the 200th anniversary of his birth. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa.* 2018; 18(3): 104–8. <https://doi.org/10.17116/rosakush2018182104-108> (in Russian)

4. Smirnova S.S., Golubkova A.A., Alimov A.V., Akimkin V.G. Prenatal infection of the newborns as an epidemic marker in maternity hospitals. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2019; 18(5): 42–9. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-42-49> (in Russian)
5. Naygovzina N.B., Popova A.Yu., Biryukova E.E., Ezhlova E.B., Igonina E.P., Pokrovskiy V.I., et al. Optimization of the system of measures for control and prevention of healthcare-associated infections, in the Russian Federation. *ORGZDRAV: novosti, mneniya, obucheniya. Vestnik VShOUZ*. 2018; (1): 17–26. (in Russian)
6. Say L., Chou D., Gemmill A., Tunçalp Ö., Moller A.B., Daniels J., et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet Glob. Health*. 2014; 2(6): e323–33. [https://doi.org/10.1016/s2214-109x\(14\)70227-x](https://doi.org/10.1016/s2214-109x(14)70227-x)
7. Radzinskiy V.E. *Obstetric Aggression, v. 2.0 [Akusherstvennaya agressiya, v. 2.0]*. Moscow; 2017. (in Russian)
8. Parshina A.Yu. Determining the structure of maternal mortality in the Russian Federation using statistical analysis. *Sotsiosfera*. 2020; (1): 131–5. (in Russian)
9. Bonet M. et al. The global maternal sepsis study and awareness campaign (GLOSS): Study protocol. *Reprod. Health. Reproductive Health*, 2018; 15(1): 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12978-017-0437-8>
10. Devyatova E.A. Obstetric sepsis. *Akusherstvo i ginekologiya. Novosti. Mneniya. Obucheniye*. 2015; (3): 33–44. (in Russian)
11. Hensley M.K., Bauer M.E., Admon L.K., Prescott H.C. Incidence of maternal sepsis and sepsis-related maternal deaths in the United States. *JAMA*. 2019; 322(9): 890–2. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.9818>
12. Ali A., Lamont R.F. Recent advances in the diagnosis and management of sepsis in pregnancy. *F1000Res*. 2019; 8: F1000. <https://doi.org/10.12688/f1000research.18736.1>
13. Pustotina O.A. Summing up the experience gained in the treatment of puerperal mastitis in 642 patients in Russia. Comparative analysis with international recommendations. *Arkhiv akusherstva i ginekologii im. V.F. Snegireva*. 2015; 2(2): 42–7. (in Russian)
14. WHO. Mastitis. Causes and management. Geneva; 2000.
15. Khanal V., Scott J.A., Lee A.H., Binns C.W. Incidence of Mastitis in the Neonatal Period in a Traditional Breastfeeding Society: Results of a Cohort Study. *Breastfeed. Med*. 2015; 10(10): 481–7. <https://doi.org/10.1089/bfm.2015.0080>
16. Karaçam Z., Sağlık M. Breastfeeding problems and interventions performed on problems: Systematic review based on studies made in Turkey. *Turk Pediatri Ars*. 2018; 53(3): 134–48. <https://doi.org/10.5152/turkpediatriars.2018.6350>
17. Jones K., Webb S., Manresa M., Hodgetts-Morton V., Morris R.K. The incidence of wound infection and dehiscence following childbirth-related perineal trauma: A systematic review of the evidence. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. 2019; 240: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.05.038>
18. Zejnullahu V.A., Isjanovska R., Sejfića Z., Zejnullahu V.A. Surgical site infections after cesarean sections at the University Clinical Center of Kosovo: Rates, microbiological profile and risk factors. *BMC Infect. Dis*. 2019; 19(1): 752. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4383-7>
19. Sway A., Nthumba P., Solomkin J., Tarchini G., Gibbs R., Ren Y., et al. Burden of surgical site infection following cesarean section in sub-Saharan Africa: a narrative review. *Int. J. Womens Health*. 2019; 11: 309–18. <https://doi.org/10.2147/ijwh.s182362>
20. Ivannikov N.Yu., Mitichkin A.E., Dimitrova V.I., Slyusarova O.A., Khlynova S.A., Dobrokhotova Yu.E. Modern approaches to the treatment of postpartum purulent-septic diseases. *Meditsinskiy sovet*. 2019; (7): 58–69. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-7-58-69> (in Russian)
21. Oboskalova T.A., Glukhov E.Yu., Kharitonov A.N. Dynamics and structure of inflammatory infections in late postnatal period. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2016; (5): 5–9. (in Russian)
22. Conroy K., Koenig A.F., Yu Y.H., Courtney A., Lee H.J., Norwitz E.R. Infectious morbidity after cesarean delivery: 10 strategies to reduce risk. *Rev. Obstet. Gynecol*. 2012; 5(2): 69–77.
23. Castro E.O., Bortolotto M.R.F.L., Zugaib M. Sepsis e choque séptico na gestação: manejo clínico. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet*. 2008; 30(12): 631–8.
24. Karimova G.N. *Improvement of clinical and laboratory approaches to prognosis, diagnosis and tactics of treatment of postpartum endometritis*: Diss. Moscow; 2017. (in Russian)
25. Dokudaeva Sh.A. Current concepts of etiology, pathogenesis, clinical presentation and diagnosis of postpartum endometritis. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo tsentra im. N.I. Pirogova*. 2016; 11(4): 109–15. (in Russian)
26. Taylor M., Pillarisetty L.S. *Endometritis*. Treasure Island (FL); 2020.
27. Tomaeva K.G., Gaydukov S.N., Komissarova E.N. The incidence of postpartum endometritis in women with different somatotypes. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2019; 26(3): 9–13. <https://doi.org/10.24411/1609-2163-2019-16400> (in Russian)
28. Balushkina A.A., Tyutyunnik V.L., Kan N.E., Pustotina O.A., Moskaleva G.V. New trends in prevention and treatment of postpartum mastitis and lactostasis. *Meditsinskiy sovet*. 2019; (12): 136–41. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-12-136-141> (in Russian)
29. Cullinane M., Amir L.H., Donath S.M., Garland S.M., Tabrizi S.N., Payne M.S., et al. Determinants of mastitis in women in the CASTLE study: A cohort study. *BMC Fam. Pract*. 2015; 16: 181. <https://doi.org/10.1186/s12875-015-0396-5>
30. Mediano P., Fernández L., Rodríguez J.M., Marin M. Case-control study of risk factors for infectious mastitis in Spanish breastfeeding women. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014; 14: 195. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-14-195>
31. Blackmon M.M., Nguyen H., Mukherji P. *Acute Mastitis*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
32. Yu Z., Sun S., Zhang Y. High-risk factors for suppurative mastitis in lactating women. *Med. Sci. Monit*. 2018; 24: 4192–7. <https://doi.org/10.12659/msm.909394>
33. De Allegri M., Sarker M., Hofmann J., Sanon M., Böhrer T. A qualitative investigation into knowledge, beliefs, and practices surrounding mastitis in sub-Saharan Africa: What implications for vertical transmission of HIV? *BMC Public Health*. 2007; 7: 22. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-22>
34. Suarez-Easton S., Zafran N., Garmi G., Salim R. Postcesarean wound infection: prevalence, impact, prevention, and management challenges. *Int. J. Womens Health*. 2017; 9: 81–8. <https://doi.org/10.2147/ijwh.s98876>
35. Kawakita T., Landy H.J. Surgical site infections after cesarean delivery: epidemiology, prevention and treatment. *Matern. Health Neonatol. Perinatol*. 2017; 3: 12. <https://doi.org/10.1186/s40748-017-0051-3>
36. Rood K.M., Buhimschi I.A., Jurcisek J.A., Summerfield T.L., Zhao G., Ackerman W.E., et al. Skin microbiota in obese women at risk for surgical site infection after cesarean delivery. *Sci. Rep*. 2018; 8(1): 8756. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27134-5>
37. Tran T.S., Jamulitrat S., Chongsuvivatwong V., Geater A. Risk factors for postcesarean surgical site infection. *Obstet. Gynecol*. 2000; 95(3): 367–71. [https://doi.org/10.1016/s0029-7844\(99\)00540-2](https://doi.org/10.1016/s0029-7844(99)00540-2)
38. Takoudes T.C., Weitzen S., Slocum J., Malee M. Risk of cesarean wound complications in diabetic gestations. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 2004; 191(3): 958–63. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.05.063>

39. Opøien H.K., Valbø A., Grinde-Andersen A., Walberg M. Post-cesarean surgical site infections according to CDC standards: rates and risk factors. A prospective cohort study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2007; 86(9): 1097–102. <https://doi.org/10.1080/00016340701515225>
40. Yerba K., Failoc-Rojas V., Zeña-Nañez S., Valladares-Garrido M. Factors associated with surgical site infection in post-cesarean section: a case-control study in a Peruvian hospital. *Ethiop. J. Health Sci.* 2020; 30(1): 95–100. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v30i1.12>
41. Moiseeva K.E., Shevtsova K.G., Berezkina E.N., Kharbidiya Sh.D. Pregnancy anemia as a medical and social problem. *Byulleten' nauki i praktiki.* 2019; 5(1): 103–10. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2539588> (in Russian)
42. Kupert M.A. *Endometritis after childbirth in modern obstetrics*: Diss. Chelyabinsk; 2006. (in Russian)
43. Barinov S.V., Blauman E.S., Tirskaia Yu.I., Shkabarnya L.L., Popova L.D., Medyanikova I.V. Risk factors and peculiarities of postpartum endometritis. *Mat' i ditya v Kuzbasse.* 2017; (2): 22–8. (in Russian)
44. Samoylova T.E., Kokhno N.I., Dokudaeva Sh.A. Microbial associations in postpartum endometritis. *Russkiy meditsinskiy zhurnal. Meditsinskoe obozrenie.* 2018; 2(10): 6–13. (in Russian)
45. Zakharova I.N., Kuchina A.E., Berezhnaya I.V., Sannikova T.N. Mastitis and/or plugged ducts? How to differentiate, help and treat? *Meditsinskiy sovet.* 2019; (11): 10–5. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-11-10-15> (in Russian)
46. Zakharova I.N., Berezhnaya I.V., Sannikova T.N., Malkandueva Zh.Kh., Kuchina A.E., Sazanova Yu.O., et al. Caesarean section and lactation problems in women. *Meditsinskiy sovet.* 2018; (17): 22–9. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-17-22-29> (in Russian)
47. Tkatchenko R.A., Kaminski V.V. Postoperative infections in obstetrics and gynecology: prevention, diagnosis and treatment. *Акушерство. Гінекологія. Генетика.* 2017; 3(1): 54–65. (in Ukrainian)
48. Yokoe D.S., Christiansen C.L., Johnson R., Sands K.E., Livingston J., Shtatland E.S., et al. Epidemiology of and surveillance for postpartum infections. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(5): 837–41. <https://doi.org/10.3201/eid0705.010511>
49. Qomariyah S.N. *A community-based surveillance system for maternal deaths in Indonesia*: Diss. Aberdeen; 2013.
50. Eriksen H.M., Saether A.R., Løwer H.L., Vangen S., Hjetland R., Lundmark H., et al. Infections after caesarean sections. *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* 2009; 129(7): 618–22. <https://doi.org/10.4045/tidsskr.09.24093> (in Norwegian)
51. Pokrovskiy V.I., Semina N.A., Kovaleva E.P., Akimkin V.G. Problems and prospects of combating nosocomial infections in Russia. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2007; (1): 5–8. (in Russian)
52. Kovaleva E.P., Zargar'yants A.I. Principles of control and prevention of nosocomial infections in maternity homes (proposals to draft new sanitary and epidemiological rules). *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2010; (2): 46–50. (in Russian)
53. Lyubimova A.V., Tekhova I.G., Osmirko T.V., Shalyapina N.A. Healthcare-associated infections surveillance in maternity homes. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2014; (1): 15–8. (in Russian)
54. Zueva L.P., Aslanov B.I., Vasil'ev K.D., Ivanova T.G., Vysotskiy V.S. Epidemiological diagnostics – basis of risk-oriented technologies for the prevention healthcare-associated infections. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2017; 16(5): 69–74. (in Russian)
55. Sergevnikov V.I., Klyuchareva N.M. Pre-epidemic diagnosis of hospital-acquired purulent-septic infections' morbidity. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya – ZNiSO.* 2018; (1): 27–9. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2018-298-1-2> (in Russian)
56. Gorin V.S., Matveeva I.V., Popova Zh.Yu., Kugushev A.V., Saginor M.E. Clinical and microbiological characteristics of puerperal endometritis, diagnosis and treatment. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk).* 2011; 101(2): 9–16. (in Russian)
57. Carroli G., Mignini L. Episiotomy for vaginal birth. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014; (1): CD000081. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd000081.pub2>
58. Barinov S.V., Blauman E.S., Tirskaia Yu.I., Shkabarnya L.L., Popova L.D., Medyanikova I.V. Risk factors and peculiarities of postpartum endometritis. *Mat' i ditya v Kuzbasse.* 2017; (2): 22–8. (in Russian)
59. Agarev A.E., Zdol'nik T.D. Prediction of the development of infections associated with the provision of medical care in maternity hospitals in a second-level maternity hospital. In: *Socio-Hygienic Monitoring of Public Health: Materials for the 22 All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation [Sotsial'no-gigienicheskiy monitoring zdorov'ya naseleniya: Materialy k 22-oy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s Mezhdunarodnym uchastiem]*. Ryazan'; 2018: 196–202. (in Russian)
60. Veres I.A., Bel'ko V.I. Study of risk factors and the development of predict the occurrence of postpartum uterine infections and endometritis. *Voennaya meditsina.* 2018; (4): 77–86. (in Russian)
61. Anokhova L.I., Belokrinitskaya T.E., Pateyuk A.V., Kokhan S.T. Postnatal endometritis and its prevention (review of literature). *Nauchnoe obozrenie. Meditsinskie nauki.* 2016; (4): 6–13. (in Russian)
62. Adamyan L.V., Artymuk N.V., Belokrinitskaya T.E., Gel'fand B.R., Kulikov A.V., Kan N.E., et al. *Septic Complications in Obstetrics: Clinical Recommendations (Treatment Protocol) [Septicheskie oslozhneniya v akusherstve: Klinicheskie rekomendatsii (protokol lecheniya)]*. Moscow; 2017. (in Russian)
63. Akhmetova Zh.S., Ibaeva R.A., Sleta G.V. Hematometer as a complication after operative delivery. In: *Science Week – 2016: Materials of the All-Russian Youth Forum with International Participation [Nedelya nauki – 2016: Materialy Vserossiyskogo molodezhnogo foruma s mezhdunarodnym uchastiem]*. Stavropol'; 2016: 5–6. (in Russian)
64. Agarev A.E., Zdol'nik T.D., Kovalenko M.S. Risk factors for development of prenatal and nosological forms of health care-associated infections in puerperas. *Permskiy meditsinskiy zhurnal.* 2019; 36(5): 76–82. <https://doi.org/10.17816/pmj36576-82> (in Russian)

Информация об авторах

Смирнова Светлана Сергеевна[✉] — к.м.н., в.н.с., рук. Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи ЕНИИВИ ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Екатеринбург, Россия; доцент каф. эпидемиологии, социальной гигиены и организации госсанэпидслужбы УГМУ, Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9749-4611>

Егоров Иван Андреевич — м.н.с. Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи ЕНИИВИ ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Екатеринбург, Россия, ivan.egrov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7153-2827>

Алла Александровна Голубкова — д.м.н., проф., в.н.с. лаб. инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия; профессор каф. эпидемиологии РМАНПО, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4812-2165>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 30.12.2021;
принята к публикации 02.02.2022;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Svetlana S. Smirnova[✉] — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Head, Ural-Siberian scientific-methodological center for the prevention of health-care-related infections, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Yekaterinburg, Russia; Associate Professor, Department of epidemiology, social hygiene and organization of sanitary-epidemiological service, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9749-4611>

Ivan A. Egorov[✉] — junior researcher, Ural-Siberian scientific-methodological center for the prevention of health-care-related infections, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Yekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7153-2827>

Alla A. Golubkova — D. Sci. (Med.), Professor, leading researcher, Laboratory of infections associated with the provision of medical care, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia; Professor, Department of epidemiology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4812-2165>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 30.12.2021;
accepted for publication 02.02.2022;
published 28.02.2022

Научный обзор

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-176>

Сравнительный анализ методов изотермической амплификации нуклеиновых кислот

Чемисова О.С., Цырулина О.А.[✉], Трухачев А.Л., Носков А.К.

Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

В обзоре рассмотрены и проанализированы методы изотермической амплификации нуклеиновых кислот, в частности петлевая изотермическая амплификация ДНК и РНК (LAMP/RT-LAMP), хеликазозависимая амплификация (HDA) и рекомбиназная полимеразная амплификация (RPA). Описаны преимущества и недостатки каждой технологии, оценена возможность их применения в молекулярной диагностике инфекционных болезней. Проведён краткий обзор литературы по использованию LAMP, HDA, RPA в диагностике вирусных, бактериальных инфекций и заболеваний протозойной этиологии. Показано, что метод LAMP имеет ряд преимуществ по сравнению с другими методами диагностики: высокую эффективность, специфичность, простоту, скорость постановки реакции и минимальные требования к приборному оснащению. Сделан вывод о том, что LAMP является перспективным методом в определении ДНК/РНК различных патогенов. Приведены данные о внедрении метода LAMP в диагностику особо опасных бактериальных и вирусных инфекций, в том числе для обнаружения РНК новой коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2) в клинических образцах.

Ключевые слова: обзор, молекулярная диагностика, полимеразная цепная реакция, петлевая изотермическая амплификация ДНК и РНК, хеликазозависимая амплификация, рекомбиназная полимеразная амплификация

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

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

Для цитирования: Чемисова О.С., Цырулина О.А., Трухачев А.Л., Носков А.К. Сравнительный анализ методов изотермической амплификации нуклеиновых кислот. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):126–138.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-176>

Review article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-176>

Comparative analysis of methods for isothermal amplification of nucleic acids

Olga S. Chemisova, Oksana A. Tsyulina[✉], Alexey L. Trukhachev, Alexey K. Noskov

Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

Annotation

In this review, methods for isothermal amplification of nucleic acids are considered and analyzed, in particular, loop isothermal amplification of DNA and RNA (LAMP/RT-LAMP), helicase-dependent amplification (HDA) and recombinase polymerase amplification (RPA). The advantages and disadvantages of each of the techniques are described. The possibility of their application in the molecular diagnostics of infectious diseases is evaluated. A brief review of the literature on the use of LAMP, HDA, RPA in the diagnostics of viral, bacterial infections and diseases of protozoal etiology was conducted. It has been shown that the LAMP method has a number of advantages over other diagnostic methods: high efficiency, specificity, simplicity, turnaround time and minimum requirements for instrument equipment. As a result, it is concluded that loop isothermal amplification is a promising method for detecting the DNA/RNA of various pathogens. The data on the introduction of the LAMP method in the diagnostics of particularly dangerous bacterial and viral infections, including for the detection of RNA of a new coronavirus infection (SARS-CoV-2) in clinical samples, are presented.

Keywords: review, molecular diagnostics, polymerase chain reaction, loop mediated isothermal amplification of DNA/RNA, helicase-dependent amplification, recombinase polymerase amplification

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

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

For citation: Chemisova O.S., Tsyulina O.A., Truhachev A.L., Noskov A.K. Comparative analysis of methods for isothermal amplification of nucleic acids. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):126–138.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-176>

Введение

Молекулярно-генетические методы занимают особое место в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями, т.к. отличаются преимущественно высокой специфичностью, чувствительностью и экспрессностью. Использование молекулярно-генетических подходов, основанных, в частности, на амплификации нуклеиновых кислот, особенно актуально и эффективно в случаях, когда возбудитель относится к группе трудно культивируемых или некультивируемых, а также присутствует в малом количестве. Модернизация лабораторной диагностики инфекционных заболеваний предусматривает внедрение современных высокотехнологичных методов индикации и идентификации возбудителей [1].

На сегодняшний день одним из ключевых методов идентификации патогенов и диагностики инфекционных заболеваний является полимеразная цепная реакция (ПЦР). ПЦР — это метод молекулярной биологии, который позволяет добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) в биологическом материале. Этот процесс включает этап денатурации (разделение двухцепочечной ДНК при высокой температуре на одноцепочечные), который обычно достигается при 95–97°C, этап отжига (отжиг праймеров до одноцепочечной ДНК) и копирование одноцепочечных ДНК-цепей для создания новой двухцепочечной ДНК (этап удлинения, который требует ДНК-полимеразы) [2]. ПЦР, помимо амплификации ДНК, позволяет производить также большое количество других манипуляций с нуклеиновыми кислотами (введение мутаций, сращивание фрагментов ДНК), в связи с чем широко используется в биологической и медицинской практике [3]. Разработанный в 1983 г. Кэри Мюллисом метод ПЦР постоянно совершенствуется и обсуждается на страницах научных журналов [4]. Однако у данного метода при всех очевидных преимуществах есть существенные недостатки. А именно потребность в специализированном лабораторном дорогостоящем оборудовании (термоциклере-амплификаторе, камере для электрофореза и т.д.), что ограничивает его использование в небольших диагностических лабораториях. Процедура анализа занимает длительное время. В связи с этим

была разработана группа методов изотермической амплификации нуклеиновых кислот.

Целью данного обзора является анализ изотермических методов амплификации, альтернативных ПЦР, и оценка перспектив их применения в диагностике и системе эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями.

Изотермические методы амплификации нуклеиновых кислот

К настоящему времени в литературе описано большое количество изотермических методов амплификации нуклеиновых кислот. Самыми распространёнными среди них, на которых остановимся подробнее, являются петлевая изотермическая амплификация ДНК и РНК, хеликазозависимая амплификация и рекомбиназная полимеразная амплификация.

Петлевая изотермическая амплификация

Наиболее перспективной является петлевая изотермическая амплификация ДНК и РНК (Loop mediated isothermal amplification — LAMP и reverse transcription-coupled — RT-LAMP)¹. Понятие «изотермическая» означает, что реакция идет при постоянной температуре [5]. Метод LAMP позволяет провести то же исследование, что и с помощью ПЦР, но значительно быстрее, специфичнее, не требует дорогого приборного оснащения и квалифицированного персонала.

Методика постановки LAMP была разработана японским учёным Tsugunori Notomi и соавт. в 2000 г. [6]. Для проведения данной реакции было предложено использовать 4 или 6 (в более поздней модификации) олигонуклеотидных праймера, что позволяет значительно повысить специфичность реакции, и фермент *Bst*-полимеразу, которая является большой субъединицей ДНК-полимеразы *Bacillus stearothermophilus* и отличается сильной вытесняющей активностью. Амплификация методом LAMP включает следующие стадии: образова-

¹ SkyGen. #28 Петлевая изотермическая амплификация ДНК и РНК (LAMP и RT-LAMP): решения New England Biolabs. Available at: https://www.skygen.com/podderzhka/obzory/28_izotermicheskaya_amplifikatsiyaresheniya_ot_new_england_biolabs

ние базовой гантелеобразной структуры (с петлями на обоих концах), циклическую амплификацию и стадию элонгации и повторения циклов [7, 8]. Метод LAMP, подобно ПЦР, использует термостабильную полимеразу. Было показано, что *Bst*-полимераза нестабильна и быстро выходит из строя при 95°C. Однако она вымещает вторую цепь ДНК без участия ферментов и использования высоких температур, что является большим преимуществом перед Taq-полимеразой. Использование *Bst*-полимеразы в данном методе позволяет проводить реакцию значительно быстрее, т.к. исключается потребность в первом шаге цикла. LAMP проводится при постоянной температуре, обычно около 65°C, поскольку это температурный оптимум *Bst*-полимеразы. Также при этой температуре двухцепочечная ДНК уже менее стабильна, что облегчает посадку праймеров.

Реакция подразумевает использование 4 праймеров (2 внутренних и 2 внешних), специфичных к 6 различным участкам искомой ДНК. Наружные праймеры: F3 — прямой наружный праймер, который комплементарен участку F3с, В3 — обратный наружный праймер, комплементарный участку В3с

(длина 15–25 нуклеотидов). Внутренние праймеры: FIP — прямой внутренний праймер длиной до 50 нуклеотидов, состоящий из 2 частей, F1с(5') и F2(3'), комплементарных участкам F1 и F2с соответственно, и VIP — обратный внутренний праймер из двух частей, В1с(5') и В2(3'), которые комплементарны участкам В1 и В2с. Внутренние праймеры подобраны так, чтобы сформировать петли на концах искомого фрагмента. Для этого к 5'-концу праймера F2 прикреплена вторая часть, комплементарная F1 части матрицы, — F1с. В результате, как только новая цепь ДНК остаётся одна, из-за вымещающей активности *Bst*-полимеразы её конец тут же замыкается в петлю. То же происходит и с праймерами, садящимися на противоположный конец матрицы. В итоге появляется одноцепочечный фрагмент ДНК с петлями с обеих сторон — гантелевидная структура. На этом завершается первая стадия LAMP. Указанная структура служит матрицей для дальнейшей амплификации, в результате которой менее чем за час генерируется до 10⁹ копий целевого фрагмента ДНК. Продукт амплификации представляет собой петлевые структуры ДНК с несколькими инвертированными повторами мишени, собранными во

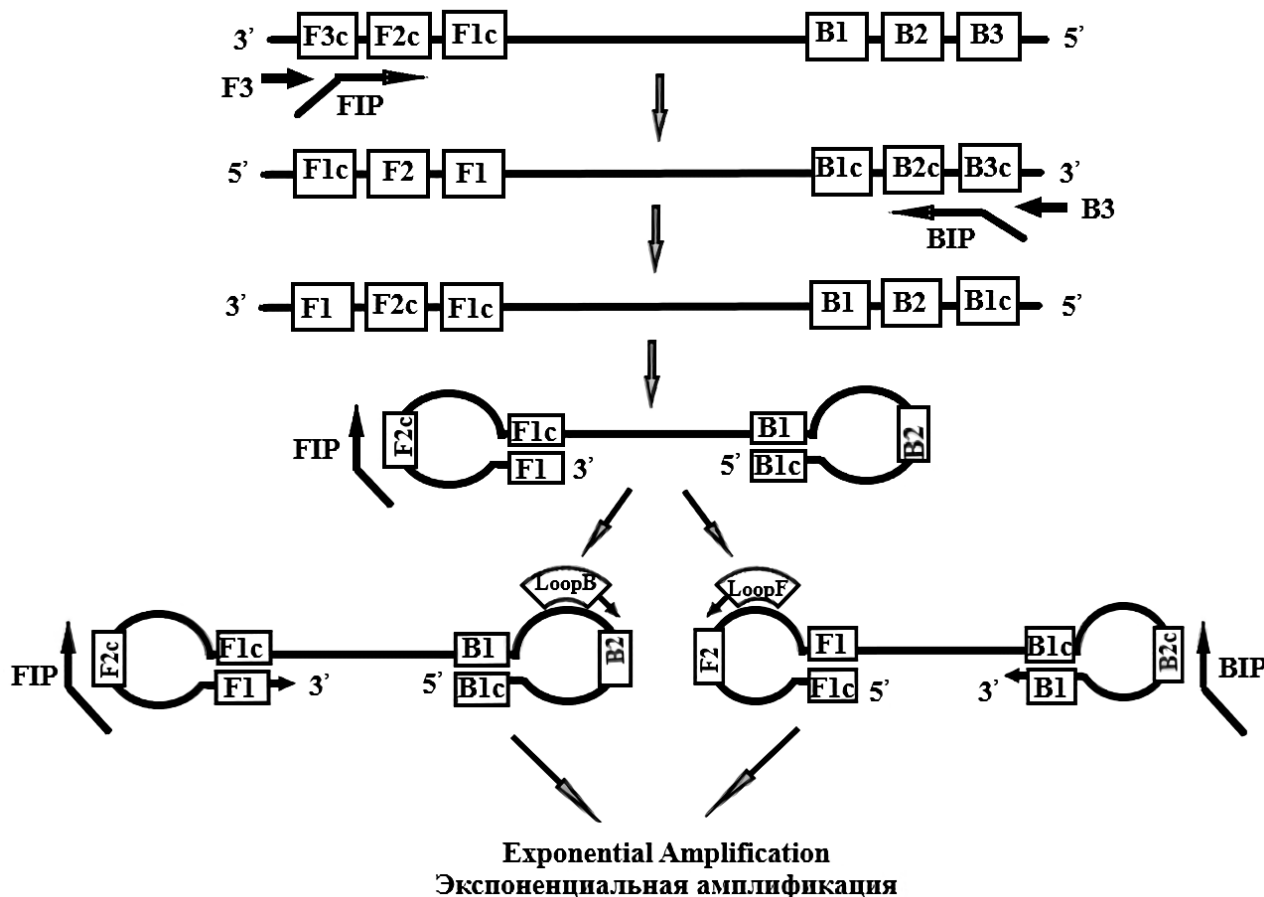


Рис. 1. Схема LAMP.

Fig. 1. Schematic representation of the LAMP.

множественные петли (подобно цветной капусте). Внешние праймеры F3 и B3 необходимы только в самом начале реакции для разделения двух матричных цепей (рис. 1).

Уже через 2 года авторы LAMP в целях ускорения реакции усовершенствовали разработанный метод путём добавления ещё одной пары праймеров LoopF и LoopB, так называемых «петлевых праймеров» (loop-primers), которые комплементарны последовательностям между участками F1 и F2, а также B1- и B2-фрагментам-мишени. Они вступают в реакцию на третьей стадии, отжигаясь на одноцепочечных участках образовавшихся ранее петель ДНК и становясь дополнительными центрами инициации полимеризации. Это повышает чувствительность реакции и уменьшает время её проведения: продукт можно детектировать всего через 10–15 мин после начала реакции [9].

Модификацией реакции LAMP является вариант метода с обратной транскрипцией (RT-LAMP). В этом случае в качестве матрицы используется РНК, а в реакционную смесь добавляется обратная транскриптаза, что позволяет детектировать широкий спектр РНК-содержащих патогенов. RT-LAMP уже успешно применяется для обнаружения РНК-вирусов, в том числе SARS-CoV-2 [10].

Успех в разработке тест-систем на основе LAMP зависит от правильного дизайна праймеров, определения их оптимальных концентраций, подбора нужной концентрации ионов магния, подходящей температуры реакции и буфера [11]. Для конструирования праймеров на основе известной последовательности нуклеотидов компания «Eiken» (Япония) создала интернет-сервис Primer Explorer². На этом же ресурсе представлено руководство с требованиями к LAMP-праймерам [12]. Температуру плавления подбирают равной 55–63°C для праймеров F3, B3 и для участков F2 и B2 праймеров FIP и BIP. Для фрагментов F1c и B1c праймеров FIP и BIP (именно они формируют шпильчатые структуры, с которых начинается синтез), а также для петлевых праймеров температуру плавления подбирают равной 60–68°C.

Также большое значение имеет выбранный метод детектирования продуктов реакции. Визуализация продуктов амплификации может быть осуществлена как в режиме реального времени, так и по конечной точке с помощью гель-электрофореза. В последнем случае агарозный гель окрашивают интеркалирующим флуоресцентным красителем, например бромистым этидием или SYBR Green I. Поскольку конечный продукт состоит из цепей различной длины с многочисленными петлями ДНК, электрофорез в агарозном геле определяет продук-

ты с минимальным количеством копий ДНК-мишени в загрузочной лунке. При этом видна характерная «лестница» — конкатемерные продукты различной длины. Однако этот способ относительно трудоёмок и занимает много времени [13].

Визуальное обнаружение ДНК методом LAMP может быть выполнено по окончании LAMP, если реакционную смесь окрасить интеркалирующим красителем (например, SYBR Green, бромистый этидий, пропидиум йодид, PicoGreen) и посмотреть на неё в ультрафиолетовом свете. За изменением флуоресценции окрашенной реакционной смеси можно следить прямо в ходе процесса с помощью real-time амплификатора или специального real-time флуориметра [14]. Некоторые исследователи используют для real-time LAMP/RT-LAMP не красители, а различные варианты FIP или BIP флуоресцентных зондов. В частности, для мультиплексной real-time LAMP/RT-LAMP были предложены FIP/BIP DARQ-зонды [15].

Протекание реакции можно оценить и по другим признакам. В ходе синтеза ДНК в результате гидролиза нуклеозидтрифосфатов получается пирофосфат, который образует белый осадок с присутствующими в буфере ионами магния. Поскольку в ходе реакции LAMP образуется большое количество ДНК, то и побочного продукта (пирофосфата) тоже много. Благодаря этому помутнение реакционной смеси видно невооружённым глазом. Количество образующегося пирофосфата магния пропорционально количеству синтезированной ДНК, поэтому, измеряя концентрацию пирофосфата, можно судить о концентрации ДНК. Был даже разработан специальный прибор — турбидиметр, который позволяет по мутности проводить количественную оценку в реальном времени [16].

Побочными продуктами ферментативного синтеза ДНК, кроме ионов пирофосфата, являются протоны (ионы водорода). И если используемый буфер обладает не очень большой ёмкостью, pH раствора может заметно сдвинуться в кислую сторону. Такое значительное изменение pH сделало возможным детектирование с помощью pH-чувствительных индикаторов. В качестве pH-чувствительных красителей могут быть использованы феноловый, крезоловый или нейтральный красный, которые при добавлении в реакционную смесь меняют свой цвет [17].

Основными преимуществами метода LAMP являются (в сравнении с ПЦР):

- простота в исполнении и дешевизна (в отличие от других методов изотермической амплификации);
- окончательный результат за 5–20 мин, не считая времени на выделение и реверсию [18];
- LAMP более специфичен, потому что для реакции используется целых 4 или 6 праймеров, а в ПЦР — только два;

² LAMP primer designing software:
URL: <http://primerexplorer.jp/e>

- в случае визуальной детекции продуктов амплификации не требуется сложной техники и оборудования;
- на LAMP не оказывает влияния присутствие биологических компонентов, зачастую не позволяющих провести ПЦР. Исследуемый образец можно заносить в реакционную смесь без очистки [19].

Несмотря на очевидные достоинства метода LAMP, имеющего большие перспективы в качестве инструмента обнаружения вирусных и бактериальных нуклеиновых кислот, метод имеет ряд ограничений. Существенным недостатком является сложность, связанная с конструированием праймеров, т.к. необходимо подобрать сразу 6–8 участков на достаточно коротком фрагменте ДНК и избежать при этом амплифицирования других (нежелательных) её последовательностей, особенно в геноме хозяина, что существенно ограничивает выбор целевых участков. Другая проблема связана с оптимизацией условий данной реакции, т.к. рекомендации относительно оптимизации изотермических реакций амплификации подробно не разработаны, в отличие от ПЦР [20]. Факторами, влияющими на скорость и аналитическую чувствительность изотермических реакций амплификации, являются одновременное использование нескольких ферментов, большое количество этапов отжига праймеров и отсутствие многократных этапов денатурации [21]. LAMP менее универсален, чем ПЦР, он не пригоден для многих приложений молекулярной биологии. Подходы к мультиплексированию для LAMP менее развиты, чем для ПЦР. Большее число праймеров на мишень увеличивает вероятность взаимодействий праймер–праймер для мультиплексированных наборов мишеней. Имеются ограничения, связанные с трудностями в специфической детекции продуктов амплификации ДНК, хотя предложены различные стратегии для преодоления ложноположительных результатов [10]. Также необходимо указать на ограниченность предложений на российском рынке реагентов отечественного производства для реакции петлевой изотермической амплификации.

Хеликазозависимая амплификация

В 2004 г. сотрудники компании «New England Biolabs» предложили альтернативу ПЦР — хеликазозависимую амплификацию (helicase-dependent amplification, HDA), в которой этап тепловой денатурации для разделения двухцепочечных ДНК исключается за счёт использования хеликаз, способных разрушать водородные связи [22].

На первом этапе фермент хеликаза разделяет нити двухцепочечной ДНК. Присутствие в реакционной смеси белка MutL стимулирует активность хеликазы, а белок SSB (single-stranded binding protein), связывающийся с одноцепочечными ДНК,

предотвращает регибридизацию уже «расплетённых» хеликазой молекул. На следующем этапе два специфичных праймера отжигаются со свободными однонитевыми молекулами ДНК, а ДНК-полимераза удлинит их, синтезируя новые двунитевые цепи ДНК-мишени. Вновь синтезированные дуплексы ДНК затем вновь используются в качестве субстратов для ДНК-хеликаз, вступая в следующий раунд реакции, и цикл повторяется. Таким образом развивается одновременная цепная реакция, приводящая к экспоненциальной амплификации выбранной целевой последовательности (**рис. 2**). Реакция проходит при 37°C [23, 24].

Способы детекции продуктов реакции HDA различны. Обычно продукты HDA могут быть визуализированы в режиме реального времени с помощью флюоресценции или электрофореза в агарозном геле. Кроме того, применяются латеральные проточные методы, биочипы и электрохимические биосенсоры.

Праймеры для HDA могут быть разработаны с использованием программы «PrimerQuestSM» («Integrated DNA Technologies»). А для конструирования праймеров обратной транскрипции HDA (RT-HDA) могут быть использованы программы «Primer3»³ и «Primer3web»⁴ [25].

Достоинства метода HDA:

- быстрый и чувствительный метод амплификации нуклеиновой кислоты конкретной мишени при изотермической температуре, который не требует термоциклера (за счёт исключения стадии высокотемпературной денатурации);
- простая схема реакции по сравнению с другими изотермическими методами амплификации;
- по некоторым данным, HDA улавливает в пробе меньшую концентрацию целевой ДНК, чем LAMP [26].

Однако у этого метода есть и недостатки:

- максимальный размер амплифицируемого фрагмента не превышает 120 п.н. А если использовать хелимеразу (особым образом сшитые Tte-UvrD и Bst-полимераза), созданную компанией «BioHelix», то размер амплифицируемого фрагмента увеличивается до 1,5 т.п.н.;
- необходимость оптимизации праймеров, а иногда и буферов. Обычно оптимизация праймера и буфера проверяется и достигается с помощью ПЦР, в связи с чем возникает вопрос о необходимости дополнительных затрат на отдельную систему для фактической амплификации;

³ Primer3Plus. URL: <http://primer3plus.com>

⁴ Primer3web. URL: <http://primer3.ut.ee>

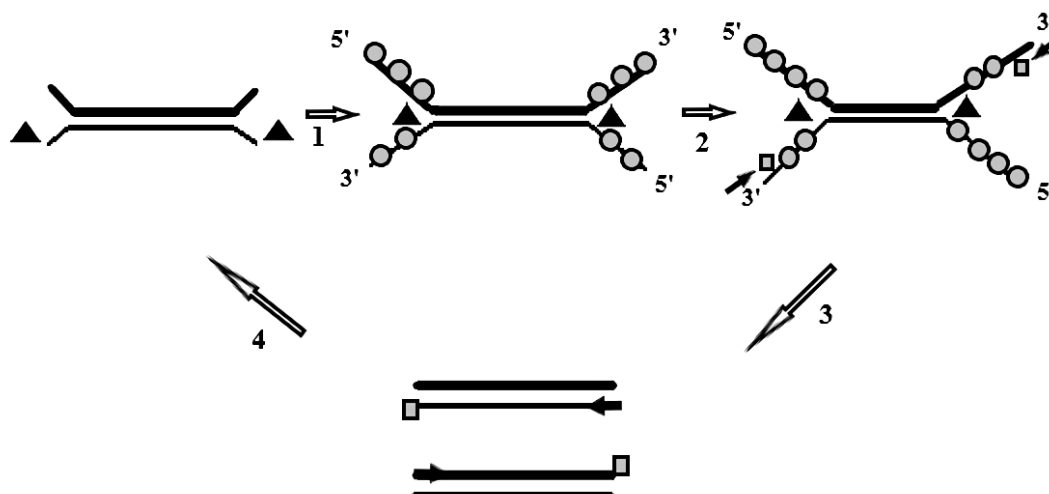


Рис. 2. Схема реакции HDA.

1 — хеликаза разделяет дуплексы ДНК в присутствии SSB и вспомогательных белков; 2 — отжиг праймеров; 3 — одонитевые молекулы ДНК амплифицируются до двух с помощью ДНК-полимеразы; 4 — синтезированные дуплексы ДНК снова вступают в реакцию, и цикл повторяется.

Fig. 2. Schematic diagram of HDA.

1 — helicases unwind DNA duplexes in the presence of SSB and accessory protein; 2 — primers anneal to DNA; 3 — DNA polymerases extend the primers, one duplex is amplified to two duplexes; 4 — DNA are separated by helicases and this chain reaction repeats itself.

- массовая диагностика большого количества образцов ещё не может быть достигнута с помощью HDA;
- стоимость приобретения реагентов для HDA относительно высока по сравнению с реагентами для ПЦР;
- большая часть работы, необходимой для обнаружения потенциально опасных микроорганизмов с использованием метода, выполняется в условиях лаборатории [27].

Рекомбиназная полимеразная амплификация

В 2006 г. британским учёным Найлом Армсом из биотехнологической компании «TwistDX Ltd.» был разработан метод рекомбиназной полимеразной амплификации (recombinase polymerase amplification, RPA) [28].

RPA — это новая изотермическая технология амплификации и детекции ДНК, которая позволяет амплифицировать ДНК в течение 30 мин при постоянной температуре 37–42°C путём моделирования *in vivo* рекомбинации ДНК. Данный метод был использован для амплификации различных мишеней, включая RNA, miRNA, ssDNA и dsDNA, из широкого спектра организмов и образцов.

В RPA используют большой фрагмент *Bsu*-полимеразы (ДНК-полимеразы *Bacillus subtilis*), SSB-белки gp32 фага T4 и его же рекомбиназу *UvsX*, а также два противоположных праймера, подобно ПЦР. Часть молекул рекомбиназы связывают с одним праймером, часть — с другим. После внесения в реакционную смесь такие молекулы сканируют ДНК в поисках комплементарных праймеру участ-

ков и, найдя их, инициируют процесс расплетения двухцепочечной молекулы и присоединения праймера. Расплетённую ДНК стабилизируют SSB-белки, а полимеразы начинают синтез. Процесс АТФ-зависимый, поскольку энергия нужна для освобождения 3'-конца праймера от молекул рекомбиназы. Размер амплифицируемого фрагмента ограничивается тысячей пар нуклеотидов, а минимальная длина праймера должна быть 30 нуклеотидов для повышения его специфичности [29]. Если мы имеем дело с РНК-матрицей, то описанную смесь реагентов дополняет обратная транскриптаза, превращающая реакцию в RT-RPA.

Хотя первоначально считалось, что для RPA необходимы специально разработанные праймеры длиной 30–35 оснований, есть несколько сообщений, демонстрирующих, что можно использовать обычные ПЦР-праймеры и достичь эффективной амплификации [30, 31]. По сравнению с ПЦР, рекомендации по конструированию праймеров и зондов для RPA менее известны.

RPA проводится как в гомогенной, так и в гетерогенной среде. Метод позиционируется как наиболее быстрый среди прочих методов амплификации. Описано использование RPA для определения различных патогенов в сочетании с различными методами детекции продуктов амплификации ДНК [32, 33].

RPA может проводиться в присутствии ингибиторов ПЦР, таких как гепарин, этанол и гемоглобин. Это, в отличие от ПЦР, позволяет проводить амплификацию непосредственно в биологических образцах (молоко, моча, кал, плевральная жидкость) после предварительного термического ли-

зиса. Несмотря на то что RPA — метод быстрый и чувствительный, высокое значение фонового сигнала часто является проблемой при его использовании. Стадия расщепления с помощью эндонуклеазы в RPA служит дополнительным этапом, позволяющим уменьшить фоновый сигнал [34].

J. Gootenberg и соавт. объединили аллель-специфическую сенсорную способность CRISPR-Cas13a (кластеризованные регулярно чередующиеся короткие палиндромные повторы) с RPA для обнаружения специфических последовательностей РНК и ДНК [35]. Этот новейший метод диагностики, получивший название SHERLOCK (Specific High sensitivity Enzymatic Reporter unLOCKing) дает уникальную возможность детектировать отдельные молекулы полинуклеотидов с помощью системы в виде бумажной тест-полоски, которую можно опустить в исследуемый образец и по положению лиловых поперечных линий увидеть, обнаружена ли искомая молекула. Метод не требует специального оборудования, подходит для полевых условий. Система совместима как с ДНК, так и с РНК. Реакция протекает в изотермических условиях с оптимумом в 37–42°C, и единственный прибор, необходимый для работы, — флуориметр.

Метод SHERLOCK начинается со стадии амплификации (RPA или RT-RPA). Затем смесь олигонуклеотидов подвергается транскрипции с помощью T7 РНК-полимеразы, промотор которой содержится в праймерах, использованных в RPA. После 2 или 3 (в случае RT-RPA) реакций синтеза получается смесь нуклеиновых кислот, обогащенная молекулами РНК искомой последовательности. В качестве зонда выступает сРНК, часть последовательности которой комплементарна искомой последовательности полинуклеотида-мишени. Образовавшийся РНК-дуплекс активирует фермент нуклеазу Cas13a из *Leptotrichia wadei*. Связавшись с дуплексом сРНК-мишени, Cas13a начинает неспецифично резать свободные нуклеиновые кислоты, в том числе флюоресцентно меченные РНК-сенсоры. Разрушение РНК приводит к флюоресценции, которая легко детектируется флуориметром [35]. Этот метод может быть использован для выявления патогенов, генотипирования и мониторинга генетических заболеваний. Его можно легко и эффективно применять как в лаборатории, так и в полевых условиях [36].

Применение методов изотермической амплификации нуклеиновых кислот в молекулярной диагностике и системе эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями

Учитывая, каким большим диагностическим потенциалом обладают методы изотермической амплификации нуклеиновых кислот, они успешно

применяются для выявления возбудителей вирусных и бактериальных инфекций.

Такие характеристики метода LAMP, как высокие эффективность, специфичность, простота и скорость постановки реакции, минимальные требования к приборному оснащению, позволяют использовать его в качестве скринингового метода в клинической лабораторной диагностике и в эпидемиологических исследованиях. В литературе описано применение LAMP для выявления генов широкого круга возбудителей бактериальных инфекций, в том числе особо опасных [37]. Так, в работе О. Mauboroda и соавт. LAMP был использован для определения ДНК *Y. pestis* [38].

Перспективность применения реакции изотермической амплификации в эпидемиологических исследованиях подтверждена при обнаружении гена *ompW* холерного вибриона в чистых культурах патогена, а также искусственно контаминированных образцах молока, испражнений и морской воды [39]. Также данный метод был апробирован в период вспышки холеры в Таиланде в 2000–2008 гг. при исследовании образцов материала от больных, контактировавших с ними лиц и здоровых волонтеров [40]. В 2008 г. W. Yamazaki и соавт. была произведена оценка применения LAMP для выявления токсигенных штаммов *V. cholerae* в реакции с набором из 6 праймеров, фланкирующих участок гена субъединицы А холерного токсина — *ctxA*, и детекцией в режиме real-time [41].

Системы детекции на основе LAMP разработаны для другого клинически значимого микроорганизма рода *Vibrio* — *Vibrio parahaemolyticus*. Показаны высокие чувствительность и специфичность реакции при анализе генов основных факторов патогенности паратегмолитического вибриона — прямого (*tdh*) и связанного (*trh*) термостабильных гемолизинов [42].

И.Ю. Щит и соавт. была показана возможность использования петлевой изотермической амплификации ДНК с применением оригинальных праймеров, оптимизированных условий и термостабильного фермента ДНК-полимеразы для выявления и идентификации микроба *Bacillus anthracis* [43]. Авторами доказано, что реакция позволяет воспроизводимо выявлять мишени, специфичные для штаммов *B. anthracis*, на хромосомной и плазмидной ДНК без обнаружения перекрестных реакций со штаммами видов группы *B. cereus*. Однако в случае сложных для LAMP матриц, например ДНК *B. mallei* и *B. pseudomallei*, исследователи рекомендуют использовать для детекции метод real-time ПЦР [44].

С помощью LAMP диагностированы возбудители различных вирусных инфекций: лихорадка Западного Нила, лихорадка Денге, тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС), японского

энцефалита, тропической комариной лихорадки, герпеса, высокопатогенного гриппа А(Н5N1) и новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2 [45].

Зарубежные исследования показали успешное применение LAMP для обнаружения РНК новой коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2) в клинических образцах, демонстрируя высокие чувствительность и специфичность. Разработанный подход RT-LAMP для скрининга SARS-CoV-2, который требует только нагрева реакционной смеси при постоянной температуре и визуального контроля, облегчит диагностику этой инфекции не только в хорошо оборудованных лабораториях, но и в полевых условиях [46]. Учёными ЦНИИ Эпидемиологии на основе метода LAMP была разработана тест-система для выявления нуклеиновых кислот возбудителя SARS-CoV-2⁵. Тест полностью адаптирован для использования на базе реагентов отечественного производства.

С помощью LAMP можно проводить диагностику не только бактериальных и вирусных инфекций, но и заболеваний, вызываемых простейшими. Например, в исследовании В. Poschl и соавт., где в качестве метода сравнения был использован метод ПЦР, специфичность LAMP для идентификации *Plasmodium falciparum* составила 100% [47], что говорит об оправданности применения метода LAMP [48].

RPA также является инструментом для быстрой, специфической и экономически эффективной идентификации различных патогенов. Данный метод также применяется в сельском хозяйстве для обнаружения трансгенов и выявления паразитов. Так Y. Wu и соавт. разработали способ обнаружения ооцист *Toxoplasma gondii* в почве и воде, который основан на реакции RPA в сочетании с анализом бокового потока (LF) [49]. Было доказано, что метод B1-LF-RPA достаточно толерантен к существующим ингибиторам в окружающей среде. Кроме того, такие преимущества, как простота, скорость и экономичность, делают B1-LF-RPA перспективным молекулярным инструментом для обнаружения *T. gondii* в исследуемом материале.

Метод RPA нашел широкое применение для диагностики возбудителей различных инфекций. Так, К. Shahin и соавт. оптимизировали метод рекомбинантной полимеразной амплификации для быстрого обнаружения *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* в морепродуктах [50]. В итоге данная технология показала высокую специфичность

без перекрёстного обнаружения близкородственных *Francisella* spp. и других тестируемых бактерий. Xin-jun Du и соавт. предлагают использовать RPA для быстрой и надёжной детекции *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах [51]. W. Jiang и соавт. оптимизировали RPA и анализ бокового потока в сочетании с иммуномагнитной сепарацией для идентификации *V. parahaemolyticus* в сырых устрицах [52]. Благодаря высокой чувствительности, специфичности и скорости анализа разработанный метод открывает новый путь для быстрого скрининга *V. parahaemolyticus* в морепродуктах.

Диагностическая система SHERLOCK, основанная на работе системы CRISPR-Cas13a в сочетании с RPA, была эффективно использована для обнаружения специфических штаммов вируса Зика и Денге [36].

В литературе описано применение HDA в клинической диагностике для выявления различных инфекций бактериальной и вирусной природы, а также для обследования объектов окружающей среды. На основе HDA разработаны тесты для обнаружения в исследуемом материале *Staphylococcus aureus* и MRSA (метициллинрезистентный *S. aureus*), *Clostridium difficile*, ВИЧ, *Herpes simplex*, *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoea* с детекцией результатов при использовании специальных кассет [53–55]. Главной составляющей кассеты является тест-полоска с иммобилизованными реагентами, которые в случае положительного результата образуют окрашенные полосы.

Технология HDA в сочетании с электрохимической детекцией сигнала была использована для количественного определения бактерий рода *Salmonella* [56], а в сочетании с латеральным проточным методом — для определения *Salmonella typhimurium* в воде [57]. Кроме детекции патогенов, HDA был успешно использован при разработке флюоресцентного метода анализа микроРНК как перспективных онкомаркеров [58].

Заключение

Высокочувствительное тестирование нуклеиновых кислот имеет важное значение для усовершенствования идентификации патогенов, которые представляют серьёзную угрозу для здоровья населения. Доступные в настоящее время молекулярные анализы, основанные преимущественно на ПЦР, имеют ограничения при работе в полевых условиях или условиях недостаточности ресурсов. Следовательно, существует большой интерес к разработке экономически эффективных, надёжных и портативных платформ для раннего обнаружения патогенов. Изотермические методы амплификации нуклеиновых кислот становятся перспективной альтернативой ПЦР и значительно упрощают реализацию методов амплификации.

⁵ Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Роспотребнадзор разработал инновационный высокоточный тест для экспресс-диагностики COVID-19. Available at: https://www.rosпотребнадзор.ru/region/rss/rss.php?ELEMENT_ID=16811

При сравнении эффективности LAMP, RPA, и HDA можно сделать вывод, что каждый из методов имеет свои сильные и слабые стороны, которые могут варьироваться в зависимости от поставленной цели и задач. В настоящее время разработаны диагностические тесты на основе этих технологий для детекции ДНК широкого круга бактериальных и вирусных патогенов, в том числе ряда возбудителей особо опасных инфекций. Несмотря на имеющиеся ограничения этих методов (проблемы с конструированием праймеров, сложности с мультиплексированием, трудности в специфической детекции продуктов амплификации ДНК и т.д.), преимущества их использования значительны. Это прежде всего простота применения, высокие специфичность (благодаря использованию большего числа праймеров), результативность и скорость (отсутствие затрат времени на термоциклирование), экономическая эффективность (не требует использования дорогостоящего оборудования) и простая визуальная детекция результатов реакции.

Анализ данных литературы указывает на необходимость продолжения интенсивных научных исследований по оценке использования в лабораторной диагностике и усовершенствованию изотермических методов амплификации, а также по разработке на их основе высокочувствительных и высокоэффективных методов анализа, необходимых для практического применения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Онищенко Г.Г., Ежлова Е.Б., Дёмина Ю.В., Мельникова А.А. О мерах по совершенствованию эпидемиологического надзора в части индикации возбудителей инфекционных заболеваний. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2013; (2): 4–13.
- Зорина В.В. *Основы полимеразной цепной реакции*. М.: ДНК-технология; 2012.
- Bartlett J.M., Stirling D. A short history of the polymerase chain reaction. *Methods Mol. Biol.* 2003; 226: 3–6. <https://doi.org/10.1385/1-59259-384-4:3>
- Mullis K. B. Process for amplifying, detecting, and/or-cloning nucleic acid sequences. U.S. Patent 4 683 195; 1987.
- Зубик А.Н., Рудницкая Г.Е., Евстапов А.А. Изотермическая петлевая амплификация LAMP в формате микрочипов (Обзор). *Научное приборостроение*. 2021; 31(1): 3–43. <https://doi.org/10.18358/np-31-1-i343>
- Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28(12): E63. <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>
- Миронова Л.В., Адельшин Р.В., Бикетов С.Ф., Щит И.А., Дятлов И.А., Балахонов С.В. Петлевая изотермическая амплификация ДНК: принцип метода и перспективы применения в молекулярной диагностике холеры (Обзор). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(2): 120–4. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-2-120-124>
- Tomita N., Mori Y., Kanda H., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products. *Nat. Protoc.* 2008; 3(5): 877–82. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.57>
- Mori Y., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *J. Infect. Chemother.* 2009; 15(2): 62–9. <https://doi.org/10.1007/s10156-009-0669-9>
- Хафизов К.Ф., Петров В.В., Красовитов К.В., Золкина М.В., Акимкин В.Г. Экспресс-диагностика новой коронавирусной инфекции с помощью реакции петлевой изотермической амплификации (обзор). *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(1): 17–28. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-42>
- Wong Y.P., Othman S., Lau Y.L., Radu S., Chee H.Y. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of micro-organisms. *J. Appl. Microbiol.* 2018; 124(3): 626–43. <https://doi.org/10.1111/jam.13647>
- Shirshikov F.V., Pekov Y.A., Miroshnikov K.A. MorphoCatcher: a multiple-alignment based web tool for target selection and designing taxon-specific primers in the loop-mediated isothermal amplification method. *PeerJ.* 2019; 7: e6801. <https://doi.org/10.7717/peerj.6801>
- Iwamoto T., Sonobe T., Hayashi K. Loop-mediated isothermal amplification for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis complex*, *M. avium*, and *M. intracellulare* in sputum samples. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(6): 2616–22. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.6.2616-2622.2003>
- Notomi T., Mori Y., Tomita N., Kanda H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects. *J. Microbiol.* 2015; 53(1): 1–5. <https://doi.org/10.1007/s12275-015-4656-9>
- Tanner N.A., Zhang Y., Evans T.C. Jr. Simultaneous multiple target detection in real-time loop-mediated isothermal amplification. *Biotechniques*. 2012; 53(2): 81–9. <https://doi.org/10.2144/0000113902>
- Mori Y., Kitao M., Tomita N., Notomi T. Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantifying template DNA. *J. Biochem. Biophys. Methods*. 2004; 59(2): 145–57. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2003.12.005>
- Becherer L., Borst N., Bakheit M. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) — review and classification of methods for sequence-specific detection. *Anal. Methods*. 2020; 12(6): 717–46. <https://doi.org/10.1039/C9AY02246E>
- Tanner N.A., Evans T.C. Jr. Loop-mediated isothermal amplification for detection of nucleic acids. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* 2014; 105: Unit 15.14. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1514s105>
- Shirato K., Yano T., Senba S., Akachi S., Kobayashi T., Nishinaka T., et al. Detection of Middle East respiratory syndrome coronavirus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Virol. J.* 2014; 11: 139. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-11-139>
- Khorosheva E.M., Karymov M.A., Selck D.A., Ismagilov R.F. Lack of correlation between reaction speed and analytical sensitivity in isothermal amplification reveals the value of digital methods for optimization: validation using digital real-time RT-LAMP. *Nucleic Acids Res.* 2016; 44(2): e10. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv877>
- Kimura Y., de Hoon M.J., Aoki S., Ishizu Y., Kawai Y., Kogo Y., et al. Optimization of turn-back primers in isothermal amplification. *Nucleic Acids Res.* 2011; 39(9): e59. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr041>
- Тупик А.Н., Рудницкая Г.Е., Лукашенко Т.А., Евстапов А.А. Хеликаза-зависимая изотермическая амплификация нуклеиновых кислот на микрофлюидном чипе. *Биотехнология*. 2018; 34(5): 77–85. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2018-34-5-77-85>
- Vincent M., Xu Y., Kong H. Helicase-dependent isothermal DNA amplification. *EMBO Rep.* 2004; 5(8): 795–800. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400200>

24. Chow W.H., McCloskey C., Tong Y., Hu L., You Q., Kelly C.P., et al. Application of isothermal helicase-dependent amplification with a disposable detection device in a simple sensitive stool test for toxigenic *Clostridium difficile*. *J. Mol. Diagn.* 2008; 10(5): 452–8.
<https://doi.org/10.2353/jmoldx.2008.080008>
25. Goldmeyer J., Kong H., Tang W. Development of a novel one-tube isothermal reverse transcription thermophilic helicase-dependent amplification platform for rapid RNA detection. *J. Mol. Diagn.* 2007; 9(5): 639–44.
<https://doi.org/10.2353/jmoldx.2007.070012>
26. Zahradnik C., Kolm C., Martzy R., Mach R.L., Krska R., Farnleitner A.H., et al. Detection of the 35S promoter in transgenic maize via various isothermal amplification techniques: a practical approach. *Anal. Bioanal. Chem.* 2014; 406(27): 6835–42.
<https://doi.org/10.1007/s00216-014-7889-2>
27. Motré A., Li Y., Kong H. Enhancing helicase-dependent amplification by fusing the helicase with the DNA polymerase. *Gene.* 2008; 420(1): 17–22.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2008.04.017>
28. Kersting S., Rausch V., Bier F.F., Nickisch-Rosenegk M. Rapid detection of *Plasmodium falciparum* with isothermal recombinase polymerase amplification and lateral flow analysis. *Malar. J.* 2014; 13: 99. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-99>
29. Lobato I.M., O'Sullivan C.K. Recombinase polymerase amplification: basics, applications and recent advances. *Trends Anal. Chem.* 2018; 98: 19–35.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.10.015>
30. Martorell S., Palanca S., Maquieira A., Tortajada-Genaro L. A blocked recombinase polymerase amplification for mutation analysis of *PIK3CA* gene. *Anal. Biochem.* 2017; 544: 49–56.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.12.013>
31. Yamanaka E.S., Tortajada-Genaro L.A., Maquieira A. Low-cost genotyping method based on allele-specific recombinase polymerase amplification and colorimetric microarray detection. *Microchim. Acta.* 2017; 184: 1453–1462.
<https://doi.org/10.1007/s00604-017-2144-0>
32. Tsaloglou M.N., Nemiroski A., Camci-Unal G., Christodouleas D.C., Murray L.P., Connelly J.T., et al. Handheld isothermal amplification and electrochemical detection of DNA in resource-limited settings. *Anal. Biochem.* 2018; 543: 116–21.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.11.025>
33. Yang B., Kong J., Fang X. Bandage-like wearable flexible microfluidic recombinase polymerase amplification sensor for the rapid visual detection of nucleic acids. *Talanta.* 2019; 204: 685–92.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.031>
34. Бодулев О.Л., Сахаров И.Ю. Изотермические методы амплификации нуклеиновых кислот и их применение в биоанализе (Обзор). *Биохимия.* 2020; 85(2): 174–96.
<https://doi.org/10.31857/S0320972520020037>
35. Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Lee J.W., Essletzbichler P., Dy A.J., Joung J., et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science.* 2017; 356(6336): 438–42.
<https://doi.org/10.1126/science.aam9321>
36. Myhrvold C., Freije C.A., Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Metsky H.C., Durbin A.F., et al. Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13. *Science.* 2018; 360(6387): 444–8.
<https://doi.org/10.1126/science.aas8836>
37. Saharan P., Dhingolia S., Khatri P. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) based detection of bacteria: Review. *Afr. J. Biotechnol.* 2014; 13(19): 1920–8.
<https://doi.org/10.5897/AJB2013.134459>
38. Mayboroda O., Gonzalez Benito A., Sabaté del Rio J., Svoboda M., Julich S., Tomaso H., et al. Isothermal solid-phase amplification system for detection of *Yersinia pestis*. *Anal. Bioanal. Chem.* 2016; 408(3): 671–6.
<https://doi.org/10.1007/s00216-015-9177-1>
39. Ke X.M., Chen Y.Y., Gao L.L., DU Z.P., Feng X.M., Liao R.Y., et al. Establishment and application of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid diagnosis of *Vibrio cholerae*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2009; 29(10): 2059–63. (in Chinese)
40. Okada K., Chantaroj S., Taniguchi T., Suzuki Y., Roobthaisong A., Puiprom O., et al. A rapid, simple, and sensitive loop-mediated isothermal amplification method to detect toxigenic *Vibrio cholerae* in rectal swab samples. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 66(2): 135–9.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.09.004>
41. Yamazaki W., Seto K., Taguchi M., Ishibashi M., Inoue K. Sensitive and rapid detection of cholera toxin-producing *Vibrio cholerae* using a loop-mediated isothermal amplification. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 94.
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-94>
42. Yamazaki W., Ishibashi M., Kawahara R., Inoue K. Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for sensitive and rapid detection of *Vibrio parahaemolyticus*. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 163.
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-163>
43. Цит И.Ю., Игнатов К.Б., Кудрявцева Т.Ю., Шишкова Н.А., Миронова Р.И., Маринин Л.И. и др. Использование петлевой изотермической амплификации ДНК для выявления и идентификации сибирязвенного микроба. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2017; 35(2): 69–76.
<https://doi.org/10.18821/0208-0613-2017-35-2-69-76>
44. Цит И.Ю., Игнатов К.Б., Бикетов С.Ф. Сравнительный анализ методов LAMP и ПЦР-РВ для обнаружения возбудителей сапа и мелиоидоза. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2018; 63(6): 378–84.
<https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-6-378-384>
45. Жумина А.Г. Петлевая изотермическая амплификация нуклеиновых кислот: принцип и применение. *Вестник Карагандинского университета. Серия: Биология. Медицина. География.* 2015; 79(3): 37–43.
46. Kashir J., Yaqinuddin A. Loop mediated isothermal amplification (LAMP) assays as a rapid diagnostic for COVID-19. *Med. Hypotheses.* 2020; 141: 109786.
<https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109786>
47. Pöschl B., Waneesorn J., Thekisoe O., Chutipongvivate S., Karanis P. Comparative diagnosis of malaria infections by microscopy, nested PCR, and LAMP in northern Thailand. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010; 83(1): 56–60.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0630>
48. Gao X., Sun B., Guan Y. Pullulan reduces the non-specific amplification of loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Anal. Bioanal. Chem.* 2019; 411(6): 1211–8.
<https://doi.org/10.1007/s00216-018-1552-2>
49. Wu Y.D., Xu M.J., Wang Q.Q., Zhou C.X., Wang M., Zhu X.Q., et al. Recombinase polymerase amplification (RPA) combined with lateral flow (LF) strip for detection of *Toxoplasma gondii* in the environment. *Vet. Parasitol.* 2017; 243: 199–203.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.026>
50. Shahin K., Gustavo Ramirez-Paredes J., Harold G., Lopez-Jimena B., Adams A., Weidmann M. Development of a recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*. *PLoS One.* 2018; 13(2): e0192979.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192979>
51. Du X.J., Zang Y.X., Liu H.B., Li P., Wang S. Recombinase polymerase amplification combined with lateral flow strip for listeria monocytogenes detection in food. *J. Food Sci.* 2018; 83(4): 1041–7.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.14078>
52. Jiang W., Ren Y., Han X., Xue J., Shan T., Chen Z., et al. Recombinase polymerase amplification-lateral flow (RPA-LF) assay combined with immunomagnetic separation for rapid visual detection of *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters. *Anal. Bioanal. Chem.* 2020; 412(12): 2903–14.
<https://doi.org/10.1007/s00216-020-02532-9>

53. An L., Tang W., Ranalli T.A., Kim H.J., Wytiaz J., Kong H. Characterization of a thermostable UvrD helicase and its participation in helicase-dependent amplification. *J. Biol. Chem.* 2005; 280(32): 28952–8. <https://doi.org/10.1074/jbc.m503096200>
54. Jeong Y.J., Park K., Kim D.E. Isothermal DNA amplification *in vitro*: the helicase-dependent amplification system. *Cell Mol. Life Sci.* 2009; 66(20): 3325–36. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0094-3>
55. Chow W.H., McCloskey C., Tong Y., Hu L., You Q., Kelly C.P., et al. Application of isothermal helicase-dependent amplification with a disposable detection device in a simple sensitive stool test for toxigenic *Clostridium difficile*. *J. Mol. Diagn.* 2008; 10(5): 452–8. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2008.080008>
56. Barreda-García S., Miranda-Castro R., de-Los-Santos-Álvarez N., Miranda-Ordieres A.J., Lobo-Castañón M.J. Solid-phase helicase dependent amplification and electrochemical detection of *Salmonella* on highly stable oligonucleotide-modified ITO electrodes. *Chem. Commun. (Camb)*. 2017; 53(70): 9721–4. <https://doi.org/10.1039/c7cc05128j>
57. Tang R., Yang H., Gong Y., You M., Liu Z., Choi J.R., et al. A fully disposable and integrated paper-based device for nucleic acid extraction, amplification and detection. *Lab. Chip*. 2017; 17(7): 1270–9. <https://doi.org/10.1039/c6lc01586g>
58. Ma F., Liu M., Tang B., Zhang C.Y. Sensitive quantification of MicroRNAs by isothermal helicase-dependent amplification. *Anal. Chem.* 2017; 89(11): 6182–7. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b01113>
10. Khafizov K.F., Petrov V.V., Krasovtsov K.V., Zolkina M.V., Akimkin V.G. Rapid diagnostics of novel coronavirus infection by loop-mediated isothermal amplification. *Voprosy virusologii.* 2021; 66(1): 17–28. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-42> (in Russian)
11. Wong Y.P., Othman S., Lau Y.L., Radu S., Chee H.Y. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of micro-organisms. *J. Appl. Microbiol.* 2018; 124(3): 626–43. <https://doi.org/10.1111/jam.13647>
12. Shirshikov F.V., Pekov Y.A., Miroshnikov K.A. MorphoCatcher: a multiple-alignment based web tool for target selection and designing taxon-specific primers in the loop-mediated isothermal amplification method. *PeerJ*. 2019; 7: e6801. <https://doi.org/10.7717/peerj.6801>
13. Iwamoto T., Sonobe T., Hayashi K. Loop-mediated isothermal amplification for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex, *M. avium*, and *M. intracellulare* in sputum samples. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(6): 2616–22. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.6.2616-2622.2003>
14. Notomi T., Mori Y., Tomita N., Kanda H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects. *J. Microbiol.* 2015; 53(1): 1–5. <https://doi.org/10.1007/s12275-015-4656-9>
15. Tanner N.A., Zhang Y., Evans T.C. Jr. Simultaneous multiple target detection in real-time loop-mediated isothermal amplification. *Biotechniques*. 2012; 53(2): 81–9. <https://doi.org/10.2144/0000113902>
16. Mori Y., Kitao M., Tomita N., Notomi T. Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantifying template DNA. *J. Biochem. Biophys. Methods*. 2004; 59(2): 145–57. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2003.12.005>
17. Becherer L., Borst N., Bakheit M. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) — review and classification of methods for sequence-specific detection. *Anal. Methods*. 2020; 12(6): 717–46. <https://doi.org/10.1039/C9AY02246E>
18. Tanner N.A., Evans T.C. Jr. Loop-mediated isothermal amplification for detection of nucleic acids. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* 2014; 105: Unit 15.14. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1514s105>
19. Shirato K., Yano T., Senba S., Akachi S., Kobayashi T., Nishinaka T., et al. Detection of Middle East respiratory syndrome coronavirus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Virol. J.* 2014; 11: 139. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-11-139>
20. Khorosheva E.M., Karymov M.A., Selck D.A., Ismagilov R.F. Lack of correlation between reaction speed and analytical sensitivity in isothermal amplification reveals the value of digital methods for optimization: validation using digital real-time RT-LAMP. *Nucleic Acids Res.* 2016; 44(2): e10. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv877>
21. Kimura Y., de Hoon M.J., Aoki S., Ishizu Y., Kawai Y., Kogo Y., et al. Optimization of turn-back primers in isothermal amplification. *Nucleic Acids Res.* 2011; 39(9): e59. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr041>
22. Tupik A.N., Rudnitskaya G.E., Lukashenko T.A., Evstrapov A.A. Helicase-dependent isothermal amplification of nucleic acids on microfluidic array chip. *Biotechnologiya*. 2018; 34(5): 77–85. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2018-34-5-77-85> (in Russian)
23. Vincent M., Xu Y., Kong H. Helicase-dependent isothermal DNA amplification. *EMBO Rep.* 2004; 5(8): 795–800. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400200>
24. Chow W.H., McCloskey C., Tong Y., Hu L., You Q., Kelly C.P., et al. Application of isothermal helicase-dependent amplification with a disposable detection device in a simple sensitive stool test for toxigenic *Clostridium difficile*. *J. Mol. Diagn.* 2008; 10(5): 452–8. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2008.080008>

REFERENCES

1. Onishchenko G.G., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Mel'nikova A.A. On measures to improve epidemiological surveillance in the indication of infectious pathogens. *Epidemiology and infectious diseases. Aktual'nye voprosy*. 2013; (2): 4–13. (in Russian)
2. Zorina V.V. *Fundamentals of the Polymerase Chain Reaction [Osnovy polimeraznoy tsepnoy reaktsii]*. Moscow: DNK-tehnologiya; 2012. (in Russian)
3. Bartlett J.M., Stirling D. A short history of the polymerase chain reaction. *Methods Mol. Biol.* 2003; 226: 3–6. <https://doi.org/10.1385/1-59259-384-4:3>
4. Mullis K. B. Process for amplifying, detecting, and/or-cloning nucleic acid sequences. U.S. Patent 4 683 195; 1987.
5. Zubik A.N., Rudnitskaya G.E., Evstrapov A.A. Loop-mediated isothermal amplification (lamp) technique in microdevice format (review). *Nauchnoe priborostroenie*. 2021; 31(1): 3–43. <https://doi.org/10.18358/np-31-1-i343> (in Russian)
6. Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28(12): E63. <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>
7. Mironova L.V., Adel'shin R.V., Biketov S.F., Shchit I.A., Dyatlov I.A., Balakhonov S.V. The loop mediated isothermal amplification of DNA: principle of method and perspectives of application in molecular diagnostic of cholera: publications review. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017; 62(2): 120–4. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-2-120-124> (in Russian)
8. Tomita N., Mori Y., Kanda H., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products. *Nat. Protoc.* 2008; 3(5): 877–82. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.57>
9. Mori Y., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *J. Infect. Chemother.* 2009; 15(2): 62–9. <https://doi.org/10.1007/s10156-009-0669-9>

25. Goldmeyer J., Kong H., Tang W. Development of a novel one-tube isothermal reverse transcription thermophilic helicase-dependent amplification platform for rapid RNA detection. *J. Mol. Diagn.* 2007; 9(5): 639–44. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2007.070012>
26. Zahradnik C., Kolm C., Martzy R., Mach R.L., Krska R., Farnleitner A.H., et al. Detection of the 35S promoter in transgenic maize via various isothermal amplification techniques: a practical approach. *Anal. Bioanal. Chem.* 2014; 406(27): 6835–42. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7889-2>
27. Motré A., Li Y., Kong H. Enhancing helicase-dependent amplification by fusing the helicase with the DNA polymerase. *Gene.* 2008; 420(1): 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2008.04.017>
28. Kersting S., Rausch V., Bier F.F., Nickisch-Rosenegk M. Rapid detection of *Plasmodium falciparum* with isothermal recombinase polymerase amplification and lateral flow analysis. *Malar. J.* 2014; 13: 99. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-99>
29. Lobato I.M., O'Sullivan C.K. Recombinase polymerase amplification: basics, applications and recent advances. *Trends Anal. Chem.* 2018; 98: 19–35. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.10.015>
30. Martorell S., Palanca S., Maquieira A., Tortajada-Genaro L. A blocked recombinase polymerase amplification for mutation analysis of *PIK3CA* gene. *Anal. Biochem.* 2017; 544: 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.12.013>
31. Yamanaka E.S., Tortajada-Genaro L.A., Maquieira A. Low-cost genotyping method based on allele-specific recombinase polymerase amplification and colorimetric microarray detection. *Microchim. Acta.* 2017; 184: 1453–1462. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2144-0>
32. Tsaloglou M.N., Nemiroski A., Camci-Unal G., Christodouleas D.C., Murray L.P., Connelly J.T., et al. Handheld isothermal amplification and electrochemical detection of DNA in resource-limited settings. *Anal. Biochem.* 2018; 543: 116–21. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.11.025>
33. Yang B., Kong J., Fang X. Bandage-like wearable flexible microfluidic recombinase polymerase amplification sensor for the rapid visual detection of nucleic acids. *Talanta.* 2019; 204: 685–92. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.031>
34. Bodulev O.L., Sakharov I.Yu. Isothermal nucleic acid amplification techniques and their use in bioanalysis. *Biokhimiya.* 2020; 85(2): 174–96. <https://doi.org/10.31857/S0320972520020037> (in Russian)
35. Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Lee J.W., Essletzbichler P., Dy A.J., Joung J., et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science.* 2017; 356(6336): 438–42. <https://doi.org/10.1126/science.aam9321>
36. Myhrvold C., Freije C.A., Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Metsky H.C., Durbin A.F., et al. Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13. *Science.* 2018; 360(6387): 444–8. <https://doi.org/10.1126/science.aas8836>
37. Saharan P., Dhingolia S., Khatri P. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) based detection of bacteria: Review. *Afr. J. Biotechnol.* 2014; 13(19): 1920–8. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.134459>
38. Mayboroda O., Gonzalez Benito A., Sabaté del Rio J., Svoboda M., Julich S., Tomaso H., et al. Isothermal solid-phase amplification system for detection of *Yersinia pestis*. *Anal. Bioanal. Chem.* 2016; 408(3): 671–6. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9177-1>
39. Ke X.M., Chen Y.Y., Gao L.L., DU Z.P., Feng X.M., Liao R.Y., et al. Establishment and application of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid diagnosis of *Vibrio cholerae*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2009; 29(10): 2059–63. (in Chinese)
40. Okada K., Chantaroj S., Taniguchi T., Suzuki Y., Roobthaisong A., Puiprom O., et al. A rapid, simple, and sensitive loop-mediated isothermal amplification method to detect toxigenic *Vibrio cholerae* in rectal swab samples. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 66(2): 135–9. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.09.004>
41. Yamazaki W., Seto K., Taguchi M., Ishibashi M., Inoue K. Sensitive and rapid detection of cholera toxin-producing *Vibrio cholerae* using a loop-mediated isothermal amplification. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-94>
42. Yamazaki W., Ishibashi M., Kawahara R., Inoue K. Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for sensitive and rapid detection of *Vibrio parahaemolyticus*. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 163. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-163>
43. Shchit I.Yu., Ignatov K.B., Kudryavtseva T.Yu., Shishkova N.A., Mironova R.I., Marinin L.I., et al. The use of loop-mediated isothermal DNA amplification for the detection and identification of the anthrax pathogen. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2017; 35(2): 100–8. <https://doi.org/10.3103/S0891416817020094>
44. Shchit I.Yu., Ignatov K.B., Biketov S.F. Comparative analysis of lamp and real time pcr methods to detect pathogens of glanders and melioidosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2018; 63(6): 378–84. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-6-378-384> (in Russian)
45. Zhumina A.G. Loop-mediated isothermal amplification of nucleic acids: principle and application. *Vestnik Karagandinskogo universiteta. Seriya: Biologiya. Meditsina. Geografiya.* 2015; 79(3): 37–43. (in Russian)
46. Kashir J., Yaqinuddin A. Loop mediated isothermal amplification (LAMP) assays as a rapid diagnostic for COVID-19. *Med. Hypotheses.* 2020; 141: 109786. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109786>
47. Pöschl B., Waneesorn J., Thekisoe O., Chutipongvivate S., Karanis P. Comparative diagnosis of malaria infections by microscopy, nested PCR, and LAMP in northern Thailand. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010; 83(1): 56–60. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0630>
48. Gao X., Sun B., Guan Y. Pullulan reduces the non-specific amplification of loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Anal. Bioanal. Chem.* 2019; 411(6): 1211–8. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1552-2>
49. Wu Y.D., Xu M.J., Wang Q.Q., Zhou C.X., Wang M., Zhu X.Q., et al. Recombinase polymerase amplification (RPA) combined with lateral flow (LF) strip for detection of *Toxoplasma gondii* in the environment. *Vet. Parasitol.* 2017; 243: 199–203. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.026>
50. Shahin K., Gustavo Ramirez-Paredes J., Harold G., Lopez-Jimena B., Adams A., Weidmann M. Development of a recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of *Francisella noatunensis subsp. orientalis*. *PLoS One.* 2018; 13(2): e0192979. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192979>
51. Du X.J., Zang Y.X., Liu H.B., Li P., Wang S. Recombinase polymerase amplification combined with lateral flow strip for listeria monocytogenes detection in food. *J. Food Sci.* 2018; 83(4): 1041–7. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14078>
52. Jiang W., Ren Y., Han X., Xue J., Shan T., Chen Z., et al. Recombinase polymerase amplification-lateral flow (RPA-LF) assay combined with immunomagnetic separation for rapid visual detection of *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters. *Anal. Bioanal. Chem.* 2020; 412(12): 2903–14. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02532-9>
53. An L., Tang W., Ranalli T.A., Kim H.J., Wytiaz J., Kong H. Characterization of a thermostable UvrD helicase and its participation in helicase-dependent amplification. *J. Biol. Chem.* 2005; 280(32): 28952–8. <https://doi.org/10.1074/jbc.m503096200>
54. Jeong Y.J., Park K., Kim D.E. Isothermal DNA amplification in vitro: the helicase-dependent amplification system. *Cell Mol. Life Sci.* 2009; 66(20): 3325–36. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0094-3>

55. Chow W.H., McCloskey C., Tong Y., Hu L., You Q., Kelly C.P., et al. Application of isothermal helicase-dependent amplification with a disposable detection device in a simple sensitive stool test for toxigenic *Clostridium difficile*. *J. Mol. Diagn.* 2008; 10(5): 452–8. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2008.080008>
56. Barreda-García S., Miranda-Castro R., de-Los-Santos-Álvarez N., Miranda-Ordieres A.J., Lobo-Castañón M.J. Solid-phase helicase dependent amplification and electrochemical detection of Salmonella on highly stable oligonucleotide-modified ITO electrodes. *Chem. Commun. (Camb)*. 2017; 53(70): 9721–4. <https://doi.org/10.1039/c7cc05128j>
57. Tang R., Yang H., Gong Y., You M., Liu Z., Choi J.R., et al. A fully disposable and integrated paper-based device for nucleic acid extraction, amplification and detection. *Lab. Chip*. 2017; 17(7): 1270–9. <https://doi.org/10.1039/c6lc01586g>
58. Ma F., Liu M., Tang B., Zhang C.Y. Sensitive quantification of MicroRNAs by isothermal helicase-dependent amplification. *Anal. Chem.* 2017; 89(11): 6182–7. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b01113>

Информация об авторах

Чемисова Ольга Сергеевна — к.б.н., и.о. зав. Музея живых культур с Центром патогенных для человека вибрионов Ростовского-на-Дону противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>

Цырулина Оксана Алексеевна[✉] — к.б.н., с.н.с. Музея живых культур с Центром патогенных для человека вибрионов Ростовского-на-Дону противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, rykowskaya.oxana@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6176-2605>

Трухачев Алексей Леонидович — к.м.н., в.н.с. лаб. микробиологии чумы и других иерсиниозов Ростовского-на-Дону противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3531-1146>

Носков Алексей Кимович — к.м.н., директор Ростовского-на-Дону противочумного института, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 30.06.2021;
принята к публикации 26.01.2022;
опубликована 28.02.2022

Information about the authors

Olga S. Chemisova — Cand. Sci. (Biol.), acting Head of the Museum of living cultures with the Center for vibriosis pathogenic to humans, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>

Oksana A. Tsyulina[✉] — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Museum of living cultures with the Center for human pathogenic vibriosis, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, rykowskaya.oxana@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6176-2605>

Alexey L. Trukhachev — Cand. Sci. (Med), leading researcher, Yersinia laboratory, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3531-1146>

Alexey K. Noskov — Cand. Sci. (Med), Director, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 30.06.2021;
accepted for publication 26.01.2022;
published 28.02.2022

ХРОНИКА

III Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы»



7–8 октября 2021 г. в Москве состоялась III Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы». Мероприятие проводилось в соответствии с Планом основных организационных мероприятий Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и было организовано Центральным НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора при содействии Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов и Национального научного общества инфекционистов.

В настоящее время, когда в мире продолжается пандемия коронавирусной инфекции, иммунопрофилактика приобретает особое значение. Это уже не просто эффективная и перспективная мера борьбы с новой коронавирусной инфекцией, это неотъемлемая часть системы здравоохранения, обеспечивающая эпидемиологическое благополучие по ряду инфекционных болезней.

В работе Конференции приняли участие врачи и учёные из 85 регионов Российской Федерации и стран ближнего и дальнего зарубежья, в том числе специалисты Роспотребнадзора, Минздрава России, Минобороны России, ФМБА и других ведомств, медицинских организаций (эпидемиологи, иммунологи, педиатры, микробиологи, вирусологи, биологи, медицинские сестры и др.), сотрудники научно-исследовательских институтов различных ведомств, студенты и преподаватели высших учебных заведений, а также представители отечественных и зарубежных компаний (производители иммунобиологических и других лекарственных препаратов, медицинских изделий и оборудования).

Конференция открылась масштабными пленарными заседаниями, на которых были подняты ключевые вопросы современной иммунопрофилактики, эпидемиологического надзора, разработки эффективных средств и схем вакцинопрофилактики и которые задали тон на все дни работы форума.

— Руководством страны поставлена стратегическая задача сохранения здоровья нации, обеспечения роста численности населения, продолжительности активной, полноценной жизни, снижения

смертности, — отметила в своём приветственном слове глава Роспотребнадзора А.Ю. Попова. — Иммунопрофилактика всемирно признана одним из важнейших инструментов, применяемых для борьбы с инфекционными болезнями, одной из самых успешных и эффективных мер здравоохранения по сохранению жизни и здоровья людей.

За последние годы России удалось достичь существенного снижения заболеваемости инфекциями, управляемыми средствами вакцинопрофилактики, и обеспечить население защитой. Но жизнь ставит перед научным сообществом новые вызовы.

— Для успешного выполнения глобальной и национальной программы иммунизации в сложной эпидемиологической ситуации необходимы объединение усилий специалистов различного профиля, реализация системного подхода к обеспечению качества, эффективности и безопасности вакцинопрофилактики, — сказал директор Центрального НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора В.Г. Акимкин.

Сегодня в мире разработано более 100 различных вакцинных препаратов, которыми контролируется 46 заболеваний. Специфическая вакцинопрофилактика инфекционных болезней в ряде случаев приводит к снижению не только заболеваемости, но и смертности от заболеваний, имеющих неинфекционную природу.

— Таким образом, создавая препараты для борьбы с инфекционными болезнями, мы одновременно боремся с так называемыми неинфекционными болезнями, — подчеркнул в своём докладе заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова В.В. Зверев.

Говоря об актуальных вопросах эпидемиологического надзора в современных условиях, выступающие отдельно остановились на ситуации с новой коронавирусной инфекцией, которую ВОЗ оценила как пандемию.

— Пандемия коронавирусной инфекции показала всему миру, что инфекция не побеждена, а остается одним из важнейших направлений в медицинской науке и практике. И именно наука, в частности эпидемиология, стоит на переднем крае

обороны и осуществляет важную функцию предупреждения инфекции, профилактики и лечения, — отметил в своём докладе руководитель секции профилактической медицины Отделения медицинских наук РАН В.А. Тутьельян.

Достижения в области биотехнологии и биоинформационных возможностей позволили России в кратчайшие сроки создать и первой в мире зарегистрировать вакцину от COVID-19. На сегодняшний день, имея уже 5 вакцин против COVID-19, наша страна решает вопросы массовой иммунизации населения, анализирует изменения свойств возбудителя, что позволяет выработать оптимальные схемы защиты населения и снижения уровня заболеваемости COVID-19.

— Мониторинг за эволюцией SARS-CoV-2 — основа создания новых вакцин для профилактики COVID-19, — подчеркнул в своём докладе директор ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора В.Г. Акимкин.

Большой научный и практический интерес вызвали представленные в ходе пленарного заседания доклады известных отечественных учёных: Н.И. Брико, Л.С. Намазовой-Барановой, Ю.В. Лобзина, Р.А. Максютюва, А.А. Тотоляна, Д.Ю. Логунова.

В течение 2 дней Конференции в ходе 2 пленарных и 18 секционных заседаний были представлены 126 докладов, посвящённых ключевым проблемам иммунопрофилактики: выполнению глобальных программ ликвидации инфекционных болезней, стратегии «Иммунизация на протяжении всей жизни», перспективам развития Национального календаря профилактических прививок, обеспечению безопасности и эффективности иммунизации, реализации стратегии ВОЗ в национальных программах иммунизации, региональным календарям профилактических прививок как модели развития национального календаря, персонализации вакцинопрофилактики.

Выступающие отмечали огромный вклад иммунизации в достижение глобальных целей общественного здравоохранения, а также национальных целей проекта «Здравоохранение», в частности, снижения смертности населения, в том числе младенческой смертности, и увеличения продолжительности жизни.

В программе Конференции значительное количество докладов было посвящено вопросам совершенствования Национального календаря профи-

лактических прививок с точки зрения расширения списка инфекционных болезней и групп населения, подлежащих вакцинопрофилактике. В ряде сообщений было отмечено, что, несмотря на уже достигнутый прогресс, цели по ликвидации и элиминации болезней, таких как корь и вакциноассоциированный полиомиелит, не достигнуты из-за неполного охвата плановой вакцинацией на уровне каждого муниципального образования. Не все дети имеют доступ к новым и усовершенствованным вакцинам на бесплатной основе.

Докладчики отметили необходимость оптимизации Национального календаря профилактических прививок и Календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям с включением максимально полного перечня инфекций, которые могут быть предотвращены с помощью вакцин, а также совершенствования государственного контроля и стимулирования научных разработок в сфере иммунопрофилактики.

Наибольшее внимание участников закономерно привлекла тематика, связанная с перспективой и потенциалом вакцинопрофилактики в борьбе с пандемией COVID-19.

Участники Конференции развернули активную дискуссию по вопросам противодействия антивакцинальной пропаганде, составления индивидуальных календарей прививок.

В завершение работы Конференции были проведены круглый стол «Культура вакцинопрофилактики: эффективные инструменты повышения доверия населения» и совместное заседание профессиональных научных сообществ: Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Национального научного общества инфекционистов и проблемной комиссии Учёного совета Роспотребнадзора «Профилактика инфекций, управляемых средствами вакцинопрофилактики».

Иммунопрофилактика инфекционных заболеваний в современных условиях является проблемой государственной значимости, важным вкладом в обеспечение биобезопасности государства. Выступления на Конференции признанных экспертов в сфере иммунопрофилактики и эпидемиологии и научные дискуссии помогут в эффективной реализации конкретных направлений в этой отрасли здравоохранения, а также послужат обогащению участников современными знаниями, укрепят научные и деловые связи специалистов.

*Директор ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
академик РАН В.Г. Акимкин*

НЕКРОЛОГИ

Памяти Софьи Шаевны Рожновой (28 июня 1938 года – 29 января 2022 года)



29 января 2022 года на 84-м году жизни скончалась доктор биологических наук, руководитель Референс-центра по мониторингу за сальмонеллёзами (ранее — Всесоюзного центра по сальмонеллёзам), ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и эпидемиологии кишечных инфекций ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора Софья Шаевна Рожнова.

Софья Шаевна Рожнова — ведущий советский и российский эксперт в области сальмонеллезов, известный учёный, практик, консультант и наставник специалистов различного профиля в области пищевых зоонозов.

Софья Шаевна родилась 28 июня 1938 года в селе Ефингарь (ныне Плющевка) Баштанского района Николаевской области Украинской ССР. Свою трудовую деятельность она начала в 1956 г. в Государственном научном контрольном институте медицинских и биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича. По окончании в 1963 г. Московского государственного заочного педагогического института Софья Шаевна пришла на работу в отдел эпидемиологии кишечных инфекций созданного в тот год Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Министерства здравоохранения СССР.

С 1967 г. работа Софьи Шаевны была неразрывно связана со Всесоюзным центром по сальмонеллёзам, который функционировал на базе лабора-

тории эпидемиологии сальмонеллёзов. Основной областью её научных интересов стали вопросы организации эффективного микробиологического скрининга, эпидемиологического мониторинга и профилактики этого наиболее распространённого пищевого зооноза. В эти годы Софья Шаевна фактически стояла у истоков организации микробиологического мониторинга сальмонеллёзов на территории страны. В отчётах того периода доля ошибок лабораторий при первичной идентификации сальмонелл как рода доходила до 25%. Разработанный и внедрённый ею в практику лабораторий рациональный набор биохимических тестов позволил достичь принципиально нового уровня эффективности выявления данных возбудителей.

В 1979 г. Софья Шаевна успешно защитила диссертацию на звание кандидата биологических наук по теме «Биологические свойства *S. typhimurium*, выделенных при различных эпидемиологических ситуациях». В этой работе был не только системно обобщён десятилетний опыт работы Всесоюзного центра по сальмонеллёзам, но и впервые научно обоснована новая для эпидемиологов того времени роль *S. typhimurium* как возбудителя «внутрибольничных» инфекций.

На протяжении всего времени работы в институте Софья Шаевна курировала проблему сальмонеллёза на территории всего Советского Союза, а позднее и Российской Федерации. Туркмения, Узбекистан, Литва, Эстония, Молдавия, Украина и огромное количество городов России — от Калининграда до Владивостока — всюду была востребована её помощь как специалиста, работающего в очагах эпидемических вспышек, и наставника, терпеливо обучающего коллег. А помощь эта была нужна повсеместно — и в выжженных барханах Небит-Дага, и в тайге Усть-Кута, отправной точке всесоюзной комсомольской стройки — Байкало-Амурской магистрали.

Не менее активное участие принимала Софья Шаевна и в работе над различными международными проектами, реализуемыми в рамках Совета Экономической Взаимопомощи (СЭВ) и Всемирной организации здравоохранения, посещая Германскую Демократическую Республику, Чехословацкую Социалистическую Республику, Венгерскую Народную Республику. Добрую память о ней сохра-

нили десятки наших коллег из Монголии, Вьетнама, Гвинеи, Мексики и Афганистана, приезжавшие на обучение в Центр по сальмонеллёзам.

Подтверждением международного признания работы центра, руководимого Софьей Шаевой, стала реализация на его базе семинара в рамках Программы Всемирной организации здравоохранения «Глобальный надзор за сальмонеллёзами» в 2008 г.

В 1993 г. Софьей Шаевой была защищена диссертация на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности «эпидемиология» на тему «Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за сальмонеллёзами», в которой нашли отражение ключевые аспекты эволюции данной нозологии в СССР.

Задолго до появления международной инициативы «One Health» Софья Шаевна, осознавая невозможность решения проблемы контроля сальмонеллёза изолированными усилиями специалистов различных профилей, последовательно налаживала продуктивное взаимодействие отечественных эпидемиологов, медицинских и ветеринарных микробиологов, специалистов в области производства сельскохозяйственной продукции.

Благодаря её профессионализму, целеустремленности и высоким моральным качествам на протяжении более чем полувека происходил эффективный обмен эпидемиологическими и эпизоотологическими данными, навыками практической работы

между профильными специалистами различных министерств и ведомств в нашей стране. В рамках этой работы одним из приоритетов Софьи Шаевны было участие в организации семинаров для специалистов в области ветеринарии, многократно проводившихся на базе Центральной ветеринарной лаборатории.

За заслуги в области науки Софья Шаевна была награждена почётным знаком «Отличник здравоохранения», медалью «Ветеран труда», неоднократно награждалась почётными грамотами Министерства здравоохранения и Роспотребнадзора.

С.Ш. Рожнова опубликовала более 60 научных работ, включая монографии и статьи в профильных российских и зарубежных научных журналах, входила в авторский коллектив всех нормативных документов, регламентирующих вопросы эпидемиологического надзора за сальмонеллёзами в Российской Федерации.

Для нас Софья Шаевна всегда останется образцом высокой самоотдачи, человеческого достоинства, искренности, безукоризненной честности, тактичности, доброжелательности и непоколебимой веры в людей.

Светлая память о ней навсегда сохранится в наших сердцах.

*Коллеги, редакционная коллегия и редакция
«Журнала микробиологии,
эпидемиологии и иммунобиологии»*