

2020

МАЙ-ИЮНЬ
MAY-JUNE

Эпидемиология и Вакцинопрофилактика

Epidemiology and Vaccinal Prevention

Научно-практический журнал

Том 19, № 3

Vol. 19, No 3

ЖУРНАЛ НАЦИОНАЛЬНОЙ АССОЦИАЦИИ СПЕЦИАЛИСТОВ ПО КОНТРОЛЮ
ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ
Journal of National Association of the Specialists in Control of Health
Care-Associated Infections

Коронавирус SARS-Cov-2:
сложности патогенеза, поиски вакцин
и будущие пандемии

4

Исследование иммунобиологических свойств
поверхностных белоксодержащих антигенов
Streptococcus pneumoniae серотипа 6В

21

Менингококковый уретрит – дополнительный
источник менингококковой инфекции?

64

ЭнцеВир® ЭнцеВир® Нео



Вакцина клещевого энцефалита культуральная очищенная концентрированная инактивированная сорбированная

Профилактическая иммунизация от клещевого энцефалита является наилучшей стратегией предупреждения заболевания, его осложнений и смертности

- ✓ Входит в Календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям
- ✓ Специфическая профилактика клещевого энцефалита
- ✓ Обеспечивает защиту от штаммов Европейского и Дальневосточного генотипов вируса КЭ



МИКРОГЕН

АО «НПО «Микроген»
127473, г. Москва,
2-й Волковский пер., д.10.
тел.: +7 495 790 77 73
факс: +7 495 783 88 04
www.microgen.ru

Для лечебно-профилактических учреждений
Лицензия № 00313-ЛС от 17.02.2020
Рег. удостоверение №ЛП-002601, №Р N000763/01
Информационные материалы

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ, ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ НЕОБХОДИМА КОНСУЛЬТАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТА

ВАКЦИНА

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: **БРИКО Н. И.**, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

ПОЧЕТНЫЙ ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: **Покровский В. И.**, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА: **Акимкин В. Г.**, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Яковлева Т. В.**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ: **Ботвинкин А. Д.**, д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); **Брусина Е. Б.**, д. м. н., профессор (Кемерово, Россия); **Ковалишена О. В.**, д. м. н., профессор (Нижний Новгород, Россия); **Костинов М. П.**, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Кузин А. А.**, д. м. н. (Санкт-Петербург, Россия); **Миндлина А. Я.**, д. м. н. (Москва, Россия); **Савилов Е. Д.**, д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); **Ткаченко А. Е.**, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Фельдблюм И. В.**, д. м. н., профессор (Пермь, Россия); **Цвиркун О. В.**, д. м. н. (Москва, Россия); **Шагинян И. А.**, д. м. н. (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ: **Балахонов С. В.**, д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); **Борисова В. Н.**, к. х. н. (Москва, Россия); **Васин А. В.**, д. б. н., (Санкт-Петербург, Россия); **Горелов А. В.**, чл.-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Жанг Ф.**, д. м. н. (Харбин, Китай); **Зверев В. В.**, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Злобин В. И.**, академик РАН, д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); **Иванова О. Е.**, д. м. н. (Москва, Россия); **Ишмухаметов А. А.**, чл.-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Коломиец Н. Д.**, д. м. н., профессор (Минск, Республика Беларусь); **Коренберг Э. И.**, д. б. н., профессор (Москва, Россия); **Королева И. С.**, д. м. н. (Москва, Россия); **Кramer А.**, д. м. н., профессор (Грейсвальд, Германия); **Львов Д. К.**, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); ван дер **Линден М.**, к. м. н. (Аахен, Германия); **Малов И. В.**, д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); **Медуницын Н. В.**, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Михеева И. В.**, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Наттелл П. А.**, профессор (Оксфорд, Великобритания); **Онищенко Г. Г.**, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Петрунов Б.**, академик БАН и иностранный член РАН, д. м. н., профессор (София, Болгария); **Попова А. Ю.**, д. м. н., профессор (Москва, Россия); **Рудаков Н. В.**, д. м. н., профессор (Омск, Россия); **Стасенко В. Л.**, д. м. н., профессор (Омск, Россия); **Титов Л. П.**, чл.-корр. Национальной академии наук Беларуси, иностранный член РАН, д. м. н., профессор (Минск, Республика Беларусь); **Тотоян А. А.**, академик РАН, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

EPIDEMIOLOGY & VACCINAL PREVENTION

Scientific and Practical Journal

EDITOR-IN-CHIEF: **NIKOLAY I. BRIKO**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director of the Institute of Public Health, Head of Department of Epidemiology and Evidence-based medicine of the Sechenov University, Chief Independent Epidemiologist of the Russian Ministry of Healthcare (Moscow, Russia)

HONORARY EDITOR-IN-CHIEF: **Valentin I. Pokrovsky**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor, Adviser to the Director for Innovation of Federal Budget Institution of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Moscow, Russia)

DEPUTIES EDITOR-IN-CHIEF: **Vasily G. Akimkin**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director of Federal Budget Institution of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Moscow, Russia); **Tatiana V. Yakovleva**, Dr. Sci. (Med.), Professor, First Deputy Head of the Federal Medical and Biological Agency of Russia

EDITORIAL BOARD MEMBERS: **Alexandr D. Botvinkin**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Irkutsk, Russia); **Elena B. Brusina**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Kemerovo, Russia); **Olga V. Kovalishena**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Nizniy Novgorod, Russia); **Mikhail P. Kostinov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Alexandr A. Kuzin**, Dr. Sci. (Med.) (St. Petersburg, Russia); **Alla Ya. Mindlina**, Dr. Sci. (Med.) (Moscow, Russia); **Evgeny D. Savilov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Irkutsk, Russia); **Evgeny A. Tkachenko**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Irina V. Fel'dblum**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Perm, Russia); **Olga V. Tsvircun**, Dr. Sci. (Med.), (Moscow, Russia); **Igor A. Shaginyan**, Dr. Sci. (Med.) (Moscow, Russia)

EDITORIAL COUNCIL MEMBERS: **Sergey V. Balahonov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Irkutsk, Russia); **Vera N. Borisova**, Cand. Sci. (Chem.) (Moscow, Russia); **Andrey V. Vasin**, Dr. Sci. (Biol.), (St. Petersburg, Russia); **Alexandr V. Gorelov**, the RAS corresponding member, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Fengmin Zhang**, Dr. Sci. (Med.) (Harbin, China); **Vitaliy V. Zverev**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Vladimir I. Zlobin**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Irkutsk, Russia); **Olga E. Ivanova**, Dr. Sci. (Med.) (Moscow, Russia); **Aidar A. Ishmuhametov**, the RAS corresponding member, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Natalia D. Kolomiec**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Minsk, Republic of Belarus); **Eduard I. Korenberg**, Dr. Sci. (Biol.), Professor (Moscow, Russia); **Irina S. Korolyova**, Dr. Sci. (Med.) (Moscow, Russia); **Alexandr Kramer**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Greifswald, Germany); **Dmitry K. L'vov**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Mark van der Linden**, Cand. Sci. (Med.) (Aachen, Germany); **Valery A. Malov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Nikolai V. Medunitsyn**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Irina V. Mikheeva**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Patricia Nattell**, Professor (Oxford, UK); **Gennadiy G. Onishchenko**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Bogdan Petrunov**, Academia of the Bulgarian, foreign member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor (Sofia, Bulgaria); **Anna Yu. Popova**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); **Nikolay V. Rudakov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Omsk, Russia); **Vladimir L. Stasenko**, Dr. Sci. (Med.), Professor (Omsk, Russia); **Leonid P. Titov**, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, foreign member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor (Minsk, Republic of Belarus); **Areg A. Totolian**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (St. Petersburg, Russia)

Журнал входит в перечень изданий, которые рекомендованы ВАК для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук. С требованиями к статьям авторы могут ознакомиться на сайте: www.epidemiavac.ru. Полная версия журнала в электронном виде доступна на сайтах журнала и Российской электронной библиотеки (www.elibrary.ru). DOI: 10.31631/2073-3046

Journal is included in the List of the leading peer-reviewed scientific journals and publications, in which major scientific results of the thesis for the degree of Doctor of Science or Candidate of Science should be published. Recommendations for authors can find out on the website: www.epidemiavac.ru/jour Journal is included in the international database Ulrich's Periodicals Directory, and in EBSCO.

ISSN (Print) 2073-3046
ISSN (Online) 2619-0494



В НОМЕРЕ

Проблемная статья

- Коронавирус SARS-Cov-2: сложности патогенеза, поиски вакцин и будущие пандемии
 Е. П. Харченко 4

Оригинальные статьи

- Исследование иммунобиологических свойств поверхностных белоксодержащих антигенов *Streptococcus pneumoniae* серотипа 6B
 О. М. Кукина, И. М. Грубер, Н. К. Ахматова, О. В. Жигунова, Е. А. Курбатова, Н. Б. Егорова, Н. Е. Ястребова 21
- Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *ige*, детектированного в штаммах *Klebsiella pneumoniae*
 А. В. Устюжанин, Г. Н. Чистякова, И. И. Ремизова 28
- Клинико-эпидемиологическая характеристика гепатоцеллюлярной карциномы в Республике Саха (Якутия)
 С. С. Слепцова, С. И. Малов, Е. Д. Савилов, С. И. Семенов, В. К. Семенова, Л. А. Степаненко, О. Б. Огарков, И. В. Малов 33

Практические аспекты эпидемиологии и вакцинопрофилактики

- Распространение эндемичных субклонов Beijing B0/W148 *M. tuberculosis* на территориях Сибирского и Дальневосточного федеральных округов по результатам полногеномного секвенирования
 П. А. Хромова, В. В. Синьков, Е. Д. Савилов, С. Н. Жданова, О. Б. Огарков 41
- Клещевой энцефалит в Ярославской области в условиях плановой вакцинопрофилактики
 Т. А. Дружинина, Н. Ю. Ширина 46
- Инфекции области хирургического вмешательства в кардиохирургии. Результаты собственных исследований
 Е. Р. Цой, Л. П. Зуева, С. М. Микаелян, М. Б. Тайц 52
- Разработка и исследование диагностической эффективности набора реагентов для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot»
 С. Г. Марданлы, А. С. Авдонина 57

Обзор

- Менингококковый уретрит — дополнительный источник менингококковой инфекции?
 Н. Н. Костюкова, В. А. Бехало 64
- Гидробионты и растения – альтернативные хозяева возбудителей сапронозов
 В. И. Пушкарева 69
- Эволюция клещевого энцефалита за 80-летний период: основные проявления, вероятные причины
 Н. М. Колясникова, С. Г. Герасимов, А. А. Ишмухаметов, В. В. Погодина 78
- Микробиологические и эпидемиологические особенности микобактериозов
 И. В. Петров, Т. Х. Амирова, Л. В. Петрова, Ф. С. Петрова, Э. В. Севастьянова, Р. И. Валиев 89

Юбилей

- Наталья Николаевна Костюкова 95

Некролог

- Мефодьев Владимир Васильевич 97
- Шагинян Игорь Андроникович 98

Информационные материалы

- Об эпидемиологической ситуации по инфекциям, передающимся клещами 27
- О заседании Совета главных государственных санитарных врачей стран ЕАЭС по обсуждению ситуации с новой коронавирусной инфекцией 40
- Объявление об окончании десятой вспышки лихорадки Эбола в Демократической Республике Конго: требуются неослабный контроль за возможными эпизодами передачи инфекции и поддержка выздоровевших пациентов 51
- Эксперт: коронавирус продолжает адаптироваться в человеческом организме 77

Информация для авторов:

<https://www.epidemvac.ru/jour/about/submissions>

Журнал зарегистрирован Роскомнадзором РФ: Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-68159 от 21 декабря 2016.
 © Учредитель Некоммерческое партнерство «Национальная ассоциация по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи»: <http://nasci.ru>. © Издатель ООО «Нумиком»: ул. Верхняя Красносельская, 10-1-57, 107140 Москва, Россия. Редакция журнала «Эпидемиология и Вакцинопрофилактика»: редактор – А. М. Саардак. Макет и верстка – О. Крайнова. Корректор – Е. Л. Ясинская.
 Адрес: ул. Верхняя Красносельская 10-1-57, 107140 Москва, Россия. Тел. +7 926 480 73 84.
 E-mail: epidemvac@yandex.ru. Сайты: www.epidemvac.ru, www.epidemvac.ru/en
 Тираж: 2500 экз. Отпечатано в ООО «Тверская фабрика печати»: Беляковский пер., 46, Тверь, Россия. Подписной индекс журнала 20140 в каталоге Роспечати. Цена свободная.

CONTENTS

Problem-Solving Article

- The Coronavirus SARS-Cov-2: the Complexity of Infection Pathogenesis, the Search of Vaccines and Possible Future Pandemics
EP Kharchenko 4

Original Articles

- The Coronavirus SARS-Cov-2: the Characteristics of Structural Proteins, Contagiousness, and Possible Immune Collisions
EP Kharchenko 13

- Исследование иммунобиологических свойств поверхностных белоксодержащих антигенов *Streptococcus pneumoniae* серотипа 6B
EP Kharchenko 21

- Phylogenetic Analysis of the Nucleotide Sequences of the Uge Gene Detected in *Klebsiella pneumoniae* Strains
EP Kharchenko 28

- Clinical and Epidemiological Characteristics of Hepatocellular Carcinoma in the Republic of Saha (Yakutia)
SS Sleptsova, SI Malov, ED Savilov, SI Semenov, VK Semenova, LA Stepanenko, OB Ogarkov, IV Malov 33

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

- Dispersal of Beijing B0/W148 M. tuberculosis Endemic Subclones in Territories of the Siberia and Far Eastern Federal District by Whole Genome Study
PA Khromova, VV Sinkov, ED Savilov, SN Zhdanova, OB Ogarkov 41

- Tick-borne Encephalitis in the Yaroslavl Region in the Context of Planned Vaccine Prevention
TA Druzhinina, NYu Shirina 46

- Surgical Site Infections in Cardiac Surgery, Open-Heart Surgery Infections
ER Tsoy, LP Zueva, SM Mikaelyan, BM Taits 52

- Development and Investigation of Diagnostic Efficiency of a Test Kit for the Detection of IgM-antibodies to Individual Antigens of Rubella Virus by Immunoblotting (Western Blot)
SG Mardarly, AS Avdonina 57

Review

- Meningococcal Urethritis: an additional Source of Meningococcal Disease?
NN Kostyukova, VA Bekhalo 64

- Hydrobionts and Plants as Alternative Hosts for Saprosonis Pathogens
VI Pushkareva 69

- Evolution of Tick-Borne Encephalitis over an 80-year Period: Main Manifestations, Probable Causes
NM Kolyasnikova, SG Gerasimov, AA Ishmukhametov, VV Pogodina 78

- Microbiological and Epidemiological Features of Mycobacteriosis
IV Petrov, TKh Amirova, LV Petrova, FS Petrova, EV Sevastyanova, RI Valiev 89

Anniversary

- NN Kostyukova 95

Obituary

- Mefod'ev VV 97
Shaginyan IA 98

Information

- The Epidemiological Situation of Tick-Borne Infections 27

- Meeting of the Council of Chief State Sanitary Doctors of the Countries of the Eurasian Economic Union to Discuss the Situation with a New Coronavirus Infection 40

- 10th Ebola Outbreak in the Democratic Republic of the Congo Declared Over; Vigilance against Flare-Ups and Support for Survivors Must Continue 51

- Expert: coronavirus continues to adapt in the human body 76

Information for Authors:

<https://www.epidemvac.ru/jour/about/submissions>

The journal is registered by Roskomnadzor of the Russian Federation: Certificate of Registration PI No. FS 77-68159 dated December 21, 2016.
© Founder Noncommercial partnership «National Association of the Specialists in Control of Health Care-Associated Infections»:
<http://nasci.ru>. © Publisher LLC «Numikom»: Verkhaya Krasnoselskaya str., 10-1-57, 107140 Moscow, Russia. Editorial staff of the journal «Epidemiology and Vaccinal Prevention»: Editor – A. M. Saardak. Layout – O. Krainova. Proofreader – E. Yasinskaya.
Verkhaya Krasnoselskaya str., 10-1-57, 107140 Moscow, Russia. Tel. +7 926 480 73 84. E-mail: epidemvac@yandex.ru. Websites: www.epidemvac.ru, www.epidemvac.ru/en
Circulation: 2500 copies. Printed in LLC «Tver factory of print»: Belyakosky lane, 46, Tver, Russia. The subscription index of the journal 20140 in the Rospechat catalog. Price free.

The journal is presented in the Ulrich's International Periodicals Directory, in the EBSCO database.

Коронавирус SARS-Cov-2: сложности патогенеза, поиски вакцин и будущие пандемии

Служенье муз не терпит суеты.

А. С. Пушкин

Е. П. Харченко*

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» РАН

Резюме

Актуальность. Вакцина против коронавируса SARS-Cov-2 рассматривается как наиболее перспективное средство для укрощения вызванной им нынешней пандемии и воспрепятствования возникновению новой. В числе трудностей создания вакцин – выбор иммунодоминантных антигенов, обеспечивающих их эффективность и безвредность. **Цель** исследования – показать полезность применения концепции пептидного континуума родства белков (ПКРБ) для понимания сложности патогенеза Covid-19, поиска вакцин против Covid-19 и обсудить возможную природу будущих пандемий. **Материалы и методы.** Для выявления компьютерным анализом пептидного (иммуоэпитопного) родства S, M и N белков SARS-Cov-2 с белками человека и других вирусов был выполнен поиск гомологичных последовательностей. Источниками первичных последовательностей белков служили доступные в Интернете базы данных. **Результаты.** S-белку свойственно пептидное (иммуоэпитопное) родство со многими белками человека, локализующимися на поверхности клеток или циркулирующими в крови, и вирусов. Образование антител к SARS-Cov-2, перекрестно реагирующих с гомологичными последовательностями в белках человека, может отягощать течение Covid-19. Присутствие таких гомологичных последовательностей в вакцине против Covid-19 связано с риском развития аутоиммунных осложнений и гетерологичного иммунитета. **Вывод.** Концепция пептидного континуума родства белков (ПКРБ) представляется полезной в поисках иммунных эпитопов для вакцин против Covid-19 и позволяет спрогнозировать возможные риски, связанные с их применением. По-видимому, в будущем коронавирусные вспышки и пандемии будут чаще, чем пандемии гриппа.

Ключевые слова: Covid-19, SARS-Cov-2, S-белок, вакцина, пандемия

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Харченко Е. П. Коронавирус SARS-Cov-2: сложности патогенеза, поиски вакцин и будущие пандемии. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020; 19(3):4–20. [https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-4-20](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-4-20).

The Coronavirus SARS-Cov-2: the Complexity of Infection Pathogenesis, the Search of Vaccines and Possible Future Pandemics

EP Kharchenko**

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, St. Petersburg, Russian Federation,

Abstract

Relevance. The vaccine against the SARS-Cov-2 coronavirus is considered as the most promising approach to curb (tame) a current pandemic and prevent new one. Among difficulties in vaccine creating is a right choice of immunodominant antigens providing the effectiveness and safety of vaccines. **Aim** is to show the usefulness of application of the global immune epitope continuum protein relationship concept in the search of vaccines against SARS-Cov-2 and discuss the possible nature of future pandemics.

Materials and method. For the computer analysis of peptide (immune epitope) relationship amongst the SARS-Cov-2 structural proteins, human proteins and proteins of other viruses, the search of homologous sequences was made. All protein sequences were used from databases available on the INTERNET. Results. In the SARS-Cov-2 structural proteins, especially in S-protein, there are a large number of peptide sequences homologous to human and viral proteins that may be the cause of autoimmune complications and/or heterologous immunity. **Conclusion:** The concept of the global immune epitope continuum of protein relationship is of value in the search of immune epitopes for the vaccines against SARS-Cov-2 and allows us to predict the possible risks in vaccines. The coronavirus breaks and pandemics may be more often than the influenza pandemics.

Keywords: SARS-Cov-2, Cov-2, S-protein, vaccine, pandemic

No conflict of interest to declare.

For citation: The Coronavirus SARS-Cov-2: the Complexity of Infection Pathogenesis, the Search of Kharchenko EP. Vaccines and Possible Future Pandemics. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2020;19(3):4–20. (In Russ.). [https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-4-20](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-4-20).

* Для переписки: Харченко Евгений Петрович, д. б. н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44. +7 (812) 552-70-31, neuro.children@mail.ru. ©Харченко Е. П.

** For correspondence: Kharchenko Eugene P., Dr. Sci. (Biol.), leader researcher Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, 44 Torea pr., St. Petersburg, Russian Federation, 194223, +7 (812) 552-70-31, neuro.children@mail.ru. ©Kharchenko EP.

Введение

Характерная особенность Covid-19 – нередкое затяжное течение с мозаичной картиной поражения организма, что связывают с гиперактивацией врожденной и дисрегуляцией адаптивной иммунных систем (ИС). Каждый вирус обладает своим набором механизмов «преодоления» ИС хозяина. В качестве триггеров, запускающих патологические реакции в организме, могут выступать как продукты транскрипции и репликации вирусного генома, так и вирусные белки. Особенность инфекций – нарушение выделительных процессов и накопление в организме продуктов распада вызвавшего ее агента, приводящие к РНКемии (в случае Covid-19) и пептидемии, и соответственно к дезорганизации ИС и полисистемному поражению организма в результате нарушения его глобального регуляторного континуума. В описании изменений ИС при коронавирусных пневмониях более подробно приводятся показатели гиперактивации врожденной ИС и порождаемого ею цитокинового шторма, но скупо характеризуются сдвиги в адаптивной ИС и особенности репертуара образующихся к SARS-Cov-2 антител. Лимфопения и истощение и изнашивание пула Т-клеток – вот наиболее краткая характеристика изменений адаптивной ИС. Из числа других ее особенностей: инфильтрация легких лимфоцитами и раннее от начала клинических проявлений обнаружение специфических к коронавирусу IgM, с последующим переключением синтеза на IgG, отягощающим течение инфекции [1–4]. Это дает основание полагать, что при длительном инкубационном периоде Covid-19 включаются сложные механизмы адаптивной ИС с образованием поликлональных антител к SARS-Cov-2, выступающие как фактор патогенеза, осложняющий течение болезни.

Для раскрытия потенциальной роли адаптивной ИС в патогенезе Covid-19, как и для поиска вакцин против SARS-Cov-2 и прогнозирования связанных с ними рисков, полезными представляются концепция пептидного континуума родства белков (ПКРБ) в эволюционной иерархии организмов и частное его проявление – иммуноэпитопный континуум родства белков (ИЭКРБ). Первичные структуры белков различных организмов, включая и вирусы, обнаруживают блочное родство, то есть их последовательности родственны не по всей длине, а лишь по отдельным протяженным блокам, причем разветвленная сеть блочного родства охватывает белки, глубоко различающиеся по своим функциям. Это дало основание ввести понятие ПКРБ и показать возможные его проявления [5,6]. Выявляя в структурных белках SARS-Cov-2 последовательности, гомологичные белкам человека и белкам других вирусов можно:

1) спрогнозировать, потенциально с какими белками человека будут перекрестно связываться индуцированные инфекцией SARS-Cov-2 антитела, вызывая поражения органов и определяя клиническую симптоматику Covid-19;

2) выбрать для вакцины такие последовательности белков SARS-Cov-2, которые минимально гомологичны белкам человека и будут соответственно распознаваться ИС как «чужие» с образованием к ним антител;

3) спрогнозировать для разрабатываемых вакцин потенциальные риски возникновения аутоиммунных осложнений и гетерологического иммунитета.

Цель данного исследования – показать полезность применения концепции ПКРБ/ИЭКРБ для объяснения сложности патогенеза Covid-19, поиска вакцин против SARS-Cov-2 и обсудить возможную природу будущих пандемий.

Материалы и методы

Для компьютерного анализа были использованы последовательности 12 000 белков человека, входящих во все ткани и органы, клеточные органеллы и межклеточное вещество, ферменты, участвующие в синтезе и метаболизме. В анализ были включены также поверхностные белки из 30 РНК и ДНК-содержащих вирусов (в частности, ВИЧ, вирус гриппа, гепатитов А, В и С, кори, паротита, краснухи, полиомиелита, клещевого энцефалита, Денге, Эбола, бешенства, желтой лихорадки, цитомегаловирус, аденовирус, вирус папилломы, простой герпес, синцитиально-респираторный вирус). Источником первичных структур белков служили доступные в Интернете базы данных (www.ncbi.nlm.nih.gov, www.nextprot.org, <http://viralzone.expasy.org>).

Аргументация существования ИЭКРБ строилась на основе того, что совокупность иммунных эпитопов (ИЭ) белков в организме является подмножеством множества всех возможных в белках пептидов (П), равных по длине ИЭ [5]. Поэтому необходимым условием для существования ИЭКРБ является существование ПКРБ. Размеры ИЭ, распознаваемых главными комплексами гистосовместимости (МНС I и II), заметно отличаются, составляя соответственно 8–11 и 13–24 аминокислот. Для МНС I в качестве стандарта обычно принимается ИЭ длиной в 9 аминокислот (P₉), поэтому анализ в контексте Т-клеточного иммунитета был сосредоточен на выявлении P₉КРБ. Так как первичная структура ИЭ в пределах каждого мотива может значительно варьировать, то условно родственными пептидами принимались те из них, которые проявляли идентичность аминокислот по 5–9 позициям. Поскольку полость МНС II вмещает лишь пептид длиной в 13–14 аминокислот и концы пептида большей длины провисают вне торцов полости, не участвуя в иммунном узнавании, то применительно к МНС II анализировались лишь пептиды длиной в 14 аминокислот (P₁₄) и условно родственными принимались те из них, которые проявляли с P₁₄ в других белках идентичность по 8–14 позициям.

В статье используется международный код аминокислот: А – аланин, С – цистеин, Д – аспарагиновая кислота, Е – глутаминовая кислота,

F – фенилаланин, G – глицин, H – гистидин, I – изо-лейцин, K – лизин, L – лейцин, M – метионин, N – аспарагин, P – пролин, Q – глутамин, R – аргинин, S – серин, T – треонин, V – валин, W – триптофан, Y – тирозин.

Результаты и обсуждение

Объяснение патогенеза Covid-19 должно простирается от бессимптомного вирусоносительства SARS-Cov-2, свойственного значительной части населения, до тяжелого течения болезни. В данной статье мы ограничимся рассмотрением возможного участия адаптивной ИС в мозаике клинических симптомов Covid-19 со сложным течением, заметив что при бессимптомном вирусоносительстве к защите организма от SARS-Cov-2 привлекаются преимущественно механизмы врожденной ИС с участием естественных антител (ЕА), конститутивный синтез которых происходит спонтанно в ее В1-клетках. Последние секретируют преимущественно IgM (в меньших количествах и другие классы иммуноглобулинов) без гипермутирования зародышевых генов иммуноглобулинов независимо от Т-клеток и соответственно без презентации им антигена. Характерная особенность ЕА – полиреактивность и аутореактивность – простирается как на белки самого человеческого организма, так и на вирусы. Примером последнего служит выявление в крови пуповины здоровых новорожденных (от здоровых родителей) ЕА, распознающих пептиды из второй консервативной области gp120 ВИЧ-1 [7]. Ныне ЕА рассматриваются в числе участников первой линии обороны хозяина против инфекции, способных, что иллюстрируется приведенным примером, привносить искажения в оценки чувствительности и специфичности диагностических тестов на инфекционные агенты.

В результате компьютерного анализа в белках SARS-Cov-2 было выявлено большое множество пептидов, гомологичных белкам человека и вирусов (табл. 1 и 2). Наибольшее количество их приходится на S-белок. Из-за меньших размеров репертуар пептидов белков человека, гомологичных белкам N и M SARS-Cov-2, намного скромнее, чем у S-белка. Рассмотрим последовательно, как распространенность среди структурных белков SARS-Cov-2 пептидов, гомологичных белкам человека и других вирусов, может влиять на патогенез Covid-19, поиск и выбор вакцины против него и выявление рисков, связанных с их использованием.

Вовлеченность выявленных в белках человека пептидов, гомологичных белкам SARS-Cov-2, в патогенез Covid-19 возможна с помощью, по крайней мере, четырех разных механизмов. Первый определяется участием ИС. Из-за длительности инкубационного периода Covid-19 к началу клинического его проявления успевают включаться и механизмы адаптивной ИС с образованием антител с перекрестной активностью, которые будут связываться

с гомологичными последовательностями, общими для хозяина и SARS-Cov-2. Второй может быть связан с функциональными нарушениями, вызванными комплементарным связыванием гомологичной последовательности SARS-Cov-2 с теми молекулами, с которыми белок хозяина с соответствующей гомологичной последовательностью взаимодействует функционально. Третий механизм сопряжен с первым: с нарушением клеточной целостности в результате связывания с кросс-реактивными антителами происходит сопутствующая активация ИС в отношении новых высвобождаемых, ранее «молчащих», ИЭ. Наконец, четвертый механизм включает антитело-зависимое усиление инфицирования, фагоцитоза клеток и связывания комплемента, когда синтезируемые к патогену антитела не обладают способностью нейтрализовать сам патоген, но связываются с ним.

Перечисленные механизмы хорошо известны в молекулярной биологии и иммунологии, но скрыты от клинициста, поскольку выявление и анализ их в инфекционном процессе является трудной проблемой из-за сложности исследований молекулярных взаимодействий. Поэтому трактовка этиопатогенеза инфекционного процесса чаще всего предстает на упрощенном патофизиологическом уровне.

Для иллюстрации сложности механизмов адаптивной ИС, способных вызывать множественность поражений при Covid-19 и трудности поисков вакцин против SARS-Cov-2, кратко охарактеризуем природу иммунного узнавания и специфичности гуморального иммунного ответа.

В течение длительного времени господствовало представление, что иммунное узнавание основано на однозначном соответствии между Т-клеточным рецептором и комплексом МНС-эпитоп, то есть иммунное узнавание считалось невырожденным. В последние годы отмечается пересмотр многих фундаментальных положений иммунологии, затрагивающий, в частности, концепцию клональной селекции [8–11] в связи с функциональной вырожденностью, пронизывающей все уровни биологической организации. Применительно к иммунному узнаванию вырожденность проявляется в том, что, как уже показано экспериментально, любой ИЭ может быть распознан разными Т-клеточными рецепторами, и, следовательно, может активировать большое множество клонов лимфоцитов. В этом аспекте иммунное узнавание можно охарактеризовать как поликлональное.

С другой стороны, любой клон лимфоцитов способен распознавать множество различных ИЭ, что можно было бы определить как полиузнавание [8]. Сам процесс иммунного узнавания ныне не сводится к контакту комплекса МНС-эпитоп с Т-клеточным рецептором, а представляется как результат коллективного взаимодействия разных клеток, поскольку ключевым моментом являются последствия этого контакта. А они неоднозначны, то есть

Таблица 1. Гомологичные фрагменты S-белка SARS-Cov-2 и белков человека
Table 1. The homologous fragments of the SARS-Cov-2 S-protein and human proteins

VLTESNKKFLPFQQ (551-564)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.
FLTESNKSVLQFQN (278-291)	калиевый потенциал-зависимый канал/potassium voltage-gated channel subfamily B member 1	
VEAEVQIDRLITGR (987-1000)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.
VEAFVQISREAGGV (230-243)	метаботропный глутаматный рецептор/metabotropic glutamate receptor	
DEDDSEPVLLKGVKL (1257-1270)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.
DSDDSRPLLKEMKR (210-223)	ионотропный глутаматный рецептор/glutamate receptor ionotropic, kainate 3	
WFVTQRNFYEPQII (1102 -1115)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	
EFVTQRNCNLTQIG (743-756)	ионотропный глутаматный рецептор/glutamate receptor ionotropic, kainate 2	
IRAAEIRASANLAA (1013-1026)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	
PRRASRGASALLAA (7-20)	кальциевый потенциал-зависимый канал/voltage-dependent calcium channel subunit alpha-2/delta-3	
DLPIGINITRFQTL (228-241)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.
DVPIGIYRTESQKL (953-966)	калиевый канал/potassium channel subfamily T member 2	
GRLQSLQTYVTQQL (999-1012)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	. .
GRIKSLQTRVDQIV (574-587)	калиевый потенциал-зависимый канал/potassium voltage-gated channel subfamily KQT member 4	
KVEAEVQIDRLITG (986-999)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.
GKEAEVQGDRA SPG (1071-1084)	периаксин/periaxin	
PGDSSSGWTAGAAA (251-264)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.
CGDSSSGKHYGIYA (50-63)	фоторецепторный специфический ядерный рецептор/photoreceptor-specific nuclear receptor	
QSYGFQPTNGVG YQ (493-506)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	
TSYGKLTNGVGGH (693-706)	субстрат 1 инсулинового рецептора/insulin receptor substrate 1	
GDSSSGWTAGAAAY (252-265)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	
GGSESPGDAGAAA E (23-36)	ассоциированный с мембраной рецептор прогестерона/membrane-associated progesterone receptor component 2	
SNCVADYSVLYNSA (359-372)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	. .
SLSVLGYSVLYSSL (193-206)	D2 рецептор простагландина/prostaglandin D2 receptor	
LPLVSSQCVNL TTR (8-21)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	
LPSNSSQERPLDTR (19-32)	рецептор V2 вазопрессина/vasopressin V2 receptor	
FQTL LALHRSYLTP (238-251)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.
FQELLCLRRSSLKA (336-349)	бета-2 адренергический рецептор/beta-2 adrenergic receptor	
QQLIRAAEIRASAN (1010-1023)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.
QRQKAAEKAASAN (336-349)	рецептор гамма-аминомасляной кислоты/gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta-2	
STEC SNLL LQYGSF (746-759)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.
STEVSVLLLTYLTL (505-518)	рецептор 2 релаксина/relaxin receptor 2	
NITRFQTL LALHRS (234-247)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	
LITMFFTMLALMAS (197-210)	рецептор 4 меланокортина/melanocortin receptor 4	
CLGDIAARDLICAQ (840-853)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2	.

Таблица 1. Гомологичные фрагменты S-белка SARS-Cov-2 и белков человека (продолжение)
Table 1. The homologous fragments of the SARS-Cov-2 S-protein and human proteins (continued)

YLGNLAAADLILAC (95-108)	рецептор B2 брадикинина/B2 bradykinin receptor
SSVLHSTQDLFLPF (45-58)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
SSVGKSTATLPLSF (445-458)	мускариновый рецептор 3 ацетилхолина/muscarinic acetylcholine receptor M3
NCVADYSVLYNSAS (360-373)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
NCVLDPLVYFSAE (289-302)	рецептор 5 лизофосфатидиловой кислоты/lysophosphatidic acid receptor 5
KSNIIRGWIFGTTL (97-110)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
LDNIIAGWPFNGTM (206-219)	рецептор 2 нейропептида FF/neuropeptide FF receptor 2
SFELLHAPATVCGP (514-527)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
IFKLLQAPFTDCGD (519-532)	рецептор типа 1 инозитол-1,4,5-трифосфата/inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1
VFLVLLPLVSSQCV (3-16)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
LILVLLPVASSDCD (15-28)	интерлейкин-7/Interleukin-7
DITPCSFQGVSVIT (586-599)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
VITPESFGRDSSLT (355-368)	альфа-субъединица рецептора интерлейкина-7/interleukin-7 receptor subunit alpha
SIAIPTNFTISVTT (711-724)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
SLLPVNFTIKVTG (29-42)	альфа-субъединица рецептора интерлейкина-5/interleukin-5 receptor subunit alpha
QALNTLVKQLSSNF (957-970)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
QTLRTTVKEASSTF (335-348)	рецептор типа 2 интерлейкина-1/interleukin-1 receptor type 2
DAVDCALDPLSETK (287-300)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
DSVMWALDGLSFTY (152-165)	рецептор 1 интерферона альфа/бета/interferon alpha/beta receptor 1
TNLCPFGEVFNATR (333-346)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2 C4-A
TNKCTAPEVENAIR (1588-1601)	рецептор типа 1 комплемента/complement receptor type 1
FNCYFPLQSYGFQP (486-499)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
FACYYPVEYGFQV (1616-1629)	компонент C4-A комплемента/complement C4-A
VNLTRTQLPPAYT (16-29)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
VNLSCTQLPPERS (208-221)	белок 4, подобный Fc-рецептору/Fc receptor-like protein4
LALHRSYLTPGDSS (242-255)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
GALHRSSMQPDNSS (470-483)	поверхностный гликопротеин CD5 Т-клеток/T-cell surface glycoprotein CD5
GVLTESNKKFLPFQ (550-563)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
QVLLESNIKVLPTW (377-390)	поверхностный гликопротеин CD4 Т-клеток/T-cell surface glycoprotein CD4
LSSTASALGKLQDV (938-951)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
SSSEASALGHLNFL (1042-1055)	минорный белок комплекса гистосовместимости/minor histocompatibility protein HA-1
LIAIVMVTIMLCCM (1224-1237)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
LIACMVVTVILCRM (387-400)	рецептор 2 фибробластного фактора роста/fibroblast growth factor receptor 2
GAISSVLNDILSRL (971-984)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2

Таблица 1. Гомологичные фрагменты S-белка SARS-Cov-2 и белков человека (продолжение)
Table 1. The homologous fragments of the SARS-Cov-2 S-protein and human proteins (continued)

GAPISALLSILSFL (221-234)	вкусовой рецептор/taste receptor type 2 member 1
TRGVYYDPDKVFRSS (33-46)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
TRGFTAPSKHFRSS (271-284)	аносмин/anosmin-1
NVVIKVCSEFQFCND (125-138)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
NGVGDVCEDDFDND (693-706)	тромбоспондин-3/thrombospondin-3
GKIQDSLSSSTASAL (932-945)	рецептор тромбопоэтин/thrombopoietin receptor
GPKQTSPPSREASAL (221-234)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2

вырожденность иммунного узнавания дополняется функциональной вырожденностью – множественностью иммунных процессов, которые им запускаются: селекция Т-лимфоцитов в тимусе, выживание наивных Т-клеток и дифференциация их в эффекторные клетки и клетки памяти, возникновение толерантности, характеризующейся множеством механизмов ее формирования [12]. Каждый из этих процессов обуславливается комплексом факторов: своим временем разворачивания, содержанием ИЭ, типом антиген-презентирующей клетки, аффинностью Т-клеточного рецептора, специфическим окружением и кругом соучастующих других клеток и регуляторных факторов, а также перепрограммированием самой Т-клетки, затрагивающим в ней экспрессию генов и организацию мембраны, гомеостатическим кругооборотом клеток ИС и путями их миграции и др. Поэтому само взаимодействие комплекса МНС-ИЭ с Т-клеточным рецептором является триггером последующей, уже предуготовленной цепи молекулярно-клеточных событий, определяемой состоянием самих участников иммунного узнавания, средой, в которой оно происходит, и составом и состоянием других участников эффекторного ответа ИС. Все это характеризует ИС как нечеткую систему с континуумом состояний дифференциаций и линий (популяций, клонов) клеток, в котором каждая клетка проявляет в данный момент ее жизненного цикла в некоторой степени уникальный паттерн характеристик, реализуемых ее геномом [11].

Стало уже очевидным, что иммунная специфичность не predetermined, а возникает [8] и формируется в организме в результате селекционного процесса и в контексте переплетения множества механизмов, как, например, последовательное возрастание аффинности антител к антигену в процессе успешного уничтожения инфекционного патогена. Возникает потому, что размеры генома ограничены и невозможно унаследовать в нем сколько-нибудь значительное число генов иммуноглобулинов и самих Т-клеточных рецепторов не только к патогенам, но и к различным встречающимся в природе молекулам, а также к синтетическим продуктам, отсутствующим в ней. Для динамического обеспечения

ими организма наследуется не само многообразие их генов, а стохастический механизм его формирования из сравнительно небольшого числа их «заготовок», что служит демонстрацией экономного использования природой генетического материала. Не будет преувеличением утверждать, что в антителогенезе и в формировании многообразия рецепторов Т-клеток природа сфокусировала большинство своих разработок по быстрому изменению содержания генетической информации. Их комбинирование является противовесом высших организмов быстро размножающимся и изменяющимся патогенным микроорганизмам.

Если специфичность иммунного ответа возникает стохастично и формируется под влиянием селекции, являясь протяженным во времени процессом, то необходимо ли строго однозначное узнавание Т-клеточным рецептором комплекса МНС-ИЭ? Ответ однозначный: не необходимо. В этом случае природа не допускает излишеств, и поэтому иммунное узнавание вырождено. Для полноты ответа следует добавить, что строго однозначное узнавание и невозможно из-за ограниченности локальных ресурсов ИС и участия самих молекул МНС на обеих стадиях селекции Т-клеток в тимусе

Независимо от их источника общим свойством иммуноглобулинов являются полиреактивность и аутореактивность, особенно в случае EA [13]. Еще 30 лет назад было признано, что и моноклональные антитела всегда полиспецифичны [14]. Тестирование специфичности IgG EA на микропанели почти из 10 000 белков выявило их взаимодействие с более чем 1000 белков, зависимость состава IgG естественных антител от возраста, пола и имеющегося патологического состояния [15]. При ограниченности числа аллелей МНС у индивидуума и огромном множестве ИЭ распознавание их на уровне МНС априорно является сильно вырожденным. Первичные структуры ИЭ, связывающиеся с одним аллелем МНС, составляют мотив. В пределах мотива первичные структуры ИЭ существенно варьируют, и их родство к конкретному аллелю МНС обусловлено наличием в определенных позициях их первичной структуры якорных аминокислот, которыми они связываются с полостью МНС.

Таблица 2. Гомологичные фрагменты S-белка SARS-Cov-2 и белков других вирусов
Table 2. The homologous fragments of the SARS-Cov-2 S-protein and other virus proteins

H R S Y L T P G D	(245-253)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
W P S Y L T P D D	(38-46)	белок VP2, риновирус/белок VP2, Rhinovirus
A L G K L Q D V V	(944-952)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
A L K T L Q D F V	(178-186)	гликопротеин слияния, в.Сендай/fusion glycoprotein, Sendai virus
Q D S L S S T A S	(935-943)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
T D S L S D A A S	(565-573)	белок VP4, ротавирус/capsid protein VP4, Rotavirus A
A V D C A L D P L	(288-296)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
A V S G A L D G L	(210-218)	белок VP1, в.гепатита A/protein VP1, hepatitis A virus
N S P R R A R S V	(679-687)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
.		
Q S P R R R R S Q	(198-206)	e антиген, в.гепатита B/external core antigen, hepatitis B virus
V V L S F E L L H	(511-519)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
V V L L F L L L A	(336-344)	белок E, в.гепатита C/protein E2, hepatitis C virus
S L Q T Y V T Q Q	(1003-1011)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
S L A T V V Q Q Q	(92-100)	белок VP35, в.Эбола/protein VP35, Ebola virus
T A P A I C H D G	(1077-1085)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
T A P A P C H A G	(119-127)	белок E2, в. краснухи/protein E2, rubella virus
D L G D I S G I N	(1165-1173)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
D L R F I N G I N	(138-146)	гемагглютинин-нейраминидаза, в. паротита/protein HEM-NEUR, mumps virus
F V I R G D E V R	(400-408)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
F K I I G D E V G	(96-104)	гемагглютинин, в. кори/hemagglutinin, measles virus
V V I G I V N N T	(1128-1136)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
V V I R S V N F T	(238-246)	белок gp120, HIV1/protein gp120, HIV1
I P I G A G I C A	(664-672)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
I P P T A G I L A	(59-67)	капсидный белок C, в. Денге/ protein C, Dengue virus
F N F N G L T G T	(541-549)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
F L F N I L T G K	(51-59)	белок E, в. желтой лихорадки/protein E, yellow fever virus
G G F N F S Q I L	(798-806)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
G M S W F S Q I L	(455-463)	белок E, вирус Зика/protein E, Zika virus
L D S F K E E L D	(1145-1153)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
L T S F K R E L G	(81-89)	белок C, в. японского энцефалита/protein C, Japanese encephalitis virus
A G T I T S G W T	(879-887)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
A G F I E G G W T	(351-359)	гемагглютинин A/California/01/2019/H1N1 hemagglutinin, influenza virus A/California/01/2019/H1N1
G Y F K I Y S K H	(199-207)	S-белок, SARS-Cov-2 / S-protein, SARS-Cov-2
G Y F K I Q S G K	(272-280)	гемагглютинин, в. гриппа A/California/11/2019/ H3N2 hemagglutinin, influenza virus A/California/11/2019/ H3N2
V T L A D A G F I	(826-834)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
V T L M L A I F I	(561-569)	гемагглютинин, в. гриппа B/Yamagata/ hemagglutinin, influenza virus B/Yamagata
L I V N N A T N V	(118-126)	S-белок, SARS-Cov-2/S-protein, SARS-Cov-2
P I P A N A T N V	(671-679)	белок-гексон, аденовирус/ hexon protein, human adenovirus

Предвидение реакции ИС индивидуума на ИЭ патогена осложняется многочисленностью ее регуляторных клеток и гаплотипов МНС, выявленной в последние годы размытостью путей представления антигена через МНС I и МНС II, а также особенностями иммунопротеасом и неопределенностью иммунодоминантности антигенов. Обычно МНС I связывают пептиды (из белков эндогенного происхождения), генерируемые протеасомами, в эндоплазматическом ретикулуме, а МНС II комплексируют с генерированными лизосомным протеолизом пептидов из эндоцитированных либо фагоцитированных белков, т.е. экзогенных антигенов. Однако оба МНС имеют доступ к экзогенным и эндогенным антигенам, и презентацию МНС I пептидов из экзогенных белков, интернализированных эндоцитозом или фагоцитозом, называют кросс-презентацией [16,17]. Сам же спектр образованных ИЭ будет определяться составом протеаз в лизосомах и иммунопротеасомах и условиями протекания процесса протеолиза [18,19]. К тому же антигеногенез запускается координированным узнаванием рецепторами В-клеток трехмерной структуры ИЭ и рецептором хелперной Т-клетки линейной структуры пептида, предъявляемого В-клеткой через МНС II (т.е. через двойное узнавание), и соответствие между ними остается неизведанной областью иммунологии.

В таблице 1 представлены некоторые примеры фрагментов S-белка SARS-Cov-2, гомологичных тем белкам человека, которые локализованы на поверхности клеток или являются циркулирующими. Среди них белки нервной системы, гормоны, медиаторы, регуляторные пептиды и их рецепторы, белки ИС, рецептор вкуса и белок anosмии, белки свертывающей системы крови, фактор роста и интегрин. Все они входят в состав тех функциональных систем организма человека, нарушение которых определяет симптоматику Covid-19 (включая, помимо пневмонии, нарушения иммунной, нервной и сердечно-сосудистой систем, желудочно-кишечного тракта, почек, повышенную склонность к тромбообразованию, потерю вкуса и обоняния) и отражает нарушения глобального регуляторного континуума организма [6]. В дополнение к таблице 1 хотелось бы особо оговорить, что все структурные белки SARS-Cov-2 отличаются высоким содержанием последовательностей, гомологичных белкам гемостаза, и их высвобождение протеолизом и выход в циркуляцию потенциально могли бы быть триггером повышенного тромбообразования при Covid-19.

Из поверхностных белков вирусов S-белок SARS-Cov-2 является наиболее крупным и составляет 1218 а.к. (для сравнения, длина гемагглютинаина вируса гриппа 566 а.к.) и содержит множество последовательностей, гомологичных разным белкам человека, что обуславливает сложную картину иммунных взаимодействий и обрекает Covid-19 на пестроту клинической симптоматики с его

частым затяжным течением и системным поражением организма из-за активного вовлечения в патогенез (в дополнение к цитокиновому шторму) и адаптивной ИС, проявляющегося, возможно, образованием антител к SARS-Cov-2, реагирующих перекрестно с белками хозяина. Участие антител в регуляции физиологических процессов не нуждается в подтверждении, и их многочисленность не вызывает сомнения. Для некоторых ЕА, например, выявлены ключевые мишени их действия и конкретное участие как в физиологических процессах, отличных от иммунных, так и в патогенезе различных заболеваний [15], т.е. ЕА являются активными соучастниками глобального регуляторного континуума, под которым можно понимать совокупность всех регуляторных систем организмов, способных реагировать на возникающие внешние и внутренние стимулы. По сравнению с другими регуляторами, как подчеркивается И. П. Ашмариным и И. С. Фрейдлином в их гипотезе [20], они способны «к долговременной коррекции уровня тех или иных физиологических и биохимических процессов», что обуславливается сроками их существования и пожизненного конститутивного синтеза.

В аспекте рассматриваемого концепта ИЭКРБ, каким путем антитела, специфичные к SARS-Cov-2, способны вызывать отягощение патогенеза Covid-19 или поствакцинальные осложнения? Допустима реализация множества сценариев, и на уровне белков они определяют следующим:

- 1) одно и то же антитело может, по причине существования ИЭКРБ, связываться с разными белками;
- 2) один и тот же белок может содержать несколько разных ИЭ для связывания с разными антителами, каждое из которых может по-разному модулировать функцию белка;
- 3) эффект будет определяться множественностью индуцированных антител к SARS-Cov-2 и составом ИЭ в белках;
- 4) поскольку между белками и антителами поддерживаются отношения «один ко многим» и «многие к одному», то существование родственных ИЭ в разных белках позволяет одним и тем же антителам вызывать многоуровневые изменения во множестве белков, которые можно рассматривать как сеть, сформированную компонентами ИЭКРБ [5].

Выявление и анализ таких сетей в патогенезе инфекций представляется еще более трудным, чем анализ антиидиотипических сетей, и даже не возможным, так как эффект антитела будет определяться длительностью его контакта (динамичность ассоциации и диссоциации) с ИЭ в белке, что обуславливается аффинностью данного антитела к ИЭ. Само взаимодействие антитела с белком может проявляться не только во включении или выключении функции белка, но и модулировать уровень его активности. Обратимость и последовательность

связывания белка с разными антителами будут менять во времени профиль активности белка, который в значительной степени будет зависеть от концентраций антител в различных областях организма.

Рассмотрим далее, как распространенность среди структурных белков SARS-Cov-2 фрагментов, гомологичных белкам человека и других вирусов, может влиять на поиск и выбор вакцины против Covid-19. На сегодняшний день, несмотря на блистательные достижения молекулярной биологии и иммунологии, пробелы в наших знаниях о механизмах функционирования ИС, формирующих эффективный специфичный ответ на патоген, как и во времена Пастера, но на другом научном и технологическом уровне, низводят поиски вакцин (как, например, в случае ВИЧ или вируса гепатита С) до ловли удачи. При исключении пастеровского подхода поиск вакцины распадается на две составляющие. Первая – выбор иммуногена (антигена) возбудителя, позволяющего избежать осложнений, связанных с вакцинами из цельного инфекционного агента. Вторая стадия – создание для иммуногена платформы-носителя, вводимой в организм индивидуума. Современные биотехнологии позволяют быстро синтезировать множество вариантов вакцин-кандидатов к любому патогену, а проверка их иммуногенности и безопасности, когда окончательно решается – «быть или не быть» вакцине, процесс многоэтапный и длительный, поскольку поствакцинальные осложнения, обуславливаемые ИС, могут проявиться в отдаленном (от момента прививки вакцины) времени аутоиммунными нарушениями и/или гетерологичным иммунитетом при новых инфекциях.

В стартовавшей гонке за вакциной против Covid-19 у ее участников нет недостатка в вариантах ее изготовления: убитая вакцина (цельновирионная или расщепленная), множество вариантов живой вакцины, рекомбинантная, ДНК, мРНК, субъединичная, пептидная вакцины, вирусоподобные частицы при множестве вариантов наноплатформ. Если класть на чашу весов, определяющих важность вклада иммуногена и его платформы в эффективность и безопасность вакцины, то, признавая важность роли платформы в реализации эффекта иммуногена, бесспорно то, что первоначально решается проблема выбора самого иммуногена, а лишь потом «примеряется» к нему соответствующая платформа. При рассмотренной выше неоднозначности иммунного узнавания, как и иммунного ответа, трудно точно прогнозировать безопасность разрабатываемой вакцины.

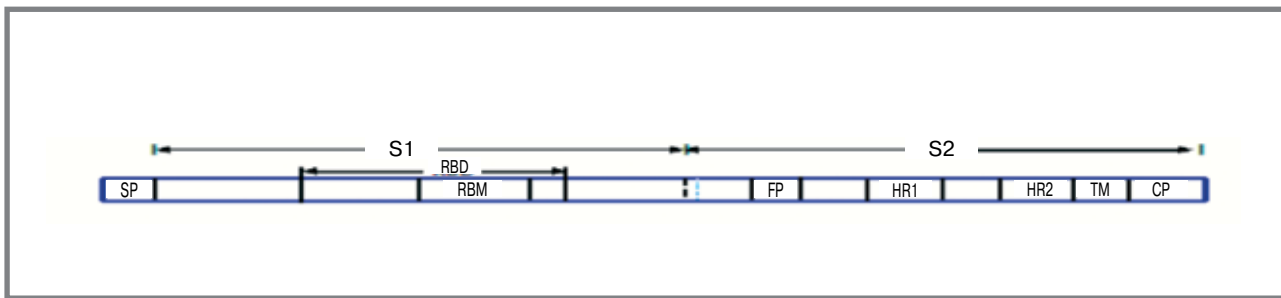
Для оценки роли выявленной гомологии белков в рамках ПКРБ следует иметь в виду, что любой белок вируса может быть «покрыт» полностью гомологичными пептидами длиной в 9 аминокислот (P_9) из белков человека, которые соответствуют длине ИЭ, презентруемых МНС I и узнаваемых рецепторами CD8 Т-лимфоцитов. Однако «покрыть»

полностью белки гомологичными пептидами длиной в 14 аминокислот (P_{14} – длина ИЭ, презентруемых МНС II и узнаваемых рецепторами CD4 Т-лимфоцитов) практически невозможно из-за большего отражения в P_{14} уникальности первичных структур белков [5].

В предельном случае P_9 -КРБ позволяет обеспечить организм в основном аутолерантным репертуаром CD8 Т-лимфоцитов. Максимальный уровень связности вирусных белков с белками человека по P_9 должен бы обуславливать слабую «видимость» их для короткоживущих CD8 Т-лимфоцитов, поскольку они и элиминируются из организма, и лишь частичную распознаваемость P_{14} как чужеродных CD4 Т-лимфоцитами [5]. Это находится в согласии с данными о формировании стойкого иммунитета к вирусам, которые «поражают и уходят», за счет гуморального иммунитета [21], опосредуемого, как известно, через участие CD4 Т-лимфоцитов, и с коллизиями при поиске вакцин, способных индуцировать, наряду с гуморальным иммунитетом, CD8 клеточный ответ. Эти поиски остаются безуспешными и против тех вирусов, которые «вторгаются и поселяются», (в частности, против ВИЧ, вирус гепатита С), т.е. патогенов, вызывающих хронические инфекции. Лишь частичная распознаваемость ИЭ вирусных белков как чужеродных CD4 Т-лимфоцитами сужает их потенциал реагирования и объясняет феномен иммунной доминантности в аспекте способности ИС реагировать лишь на малую долю ИЭ из их большого множества [5]. В контексте концепции об ИЭКРБ выбор ИЭ из протеома патогена в качестве потенциальных кандидатов вакцин уже на самых ранних этапах поиска должен быть обоснован хотя бы тем, что эти ИЭ не охвачены ИЭКРБ.

Из перечисленных в таблице 1 гомологичных последовательностей S-белка на рецептор-связывающий мотив (его позиция представлена на рис. 1) приходится пептиды инсулинового рецептора, С4 компонента комплемента; на рецептор-связывающий домен – пептиды рецепторов лизофосфатидиловой кислоты, инозитол-1,4,5-трифосфата, простагландина D2 и комплемента; на S2 субъединицу – пептиды метаболитного и ионотропного глутаматных рецепторов, потенциал-зависимых кальциевого и калиевого каналов, рецепторов гамма-аминомасляной кислоты, фибробластного фактора роста, тромбозина, релаксина и брадикинина, интегрин, вкусового рецептора. Даже на такой ограниченной выборке гомологичных пептидов, приведенных в таблице 1, проявляется резкая асимметричность их представленности в рецептор-связывающем мотиве в S1 и S2 субъединицах – резкое преобладание их в S2 субъединице, что не является случайным явлением. S2 субъединица, по сравнению с S1, характеризуется существенно большей консервативностью.

Для избегания селективного давления со стороны ИС хозяина в консервативных областях

Рисунок 1. Схема организации S белка SARS-Cov-2**Figure 1. The schematic representation of the S protein SARS-Cov-2 functional domains**

Примечание: S1 и S2 – субъединицы белка S, SP – сигнальный пептид, RBD – рецептор-связывающий домен, RBM – рецептор-связывающий мотив, FP – пептид слияния, HR-гептадный повтор, TM – трансмембранный домен, CP – цитоплазматический домен.

Notes: S1 and S2 are the subunits of the S-protein, CP, cytoplasm domain, FP, fusion peptide, HR, heptad repeat, RBD, receptor-binding domain, RBM, receptor-binding motif, SP, signal peptide; TM, transmembrane domain.

вирусных белков природой используется стратегия заселения их фрагментами, гомологичными белкам хозяина. Частичная гомология белков человека затрудняет распознавание ИС хозяина гомологичных последовательностей в белках вирусов как «не своих», облегчая вирусу инфицирование хозяина. Соответственно выработка к этим гомологичным последовательностям антител будет ограниченной или невозможной, и они будут слабыми иммуногенами при попытке создать на их основе вакцины. В этом аспекте следует предостеречь от больших надежд и ожиданий относительно создания вакцин к быстро мутирующим вирусам, нацеливаясь на консервативные области их белков, и S2 субъединица применительно к вакцинам против SARS-Cov-2 представляется, с одной стороны, как балласт, а с другой стороны, как содержащая наибольшие риски индуцирования аутоиммунных осложнений в случае снятия толерантности ИС к гомологичным последовательностям. Редуцирование же представленности в вакцине S-белка до S1 субъединицы является оптимальным в аспекте снижения возможных поствакцинальных аутоиммунных осложнений. Мозаичные вакцины из пептидов вирусных белков, неомологичных белкам человека, обеспечат более высокую вероятность индуцирования специфических к вирусу антител, но для усиления их иммуногенности потребуется использование адъювантов.

В лучшем случае обнаружение в вирусном белке последовательности, гомологичной белку человека, следует рассматривать по иммуногенности как потенциально «немую» при условии сохранности механизмов ауто толерантности к соответствующему белку человека. В противном случае такая последовательность представляет риск возникновения аутоиммунной реакции. Механизм ее возникновения часто остается непонятным прежде всего из-за неясности, реализуется ли она через центральные или многочисленные периферические механизмы. Центральные механизмы ауто толерантности охватывают лишь те белки, гены которых хаотически экспрессируются

под контролем транскрипционного регулятора AIRE (белок аутоиммунного регулятора) в медуллярных эпителиальных клетках тимуса, затрагивая примерно лишь 2000–3000 белков протеома человека [22]. К большинству белков протеома человека ауто толерантность обеспечивается через периферические механизмы. Они могут реализовываться через использование ингибиторных молекул (CTLA-4, PD-1, LAG-3 и др.), анергию иммунных клеток, игнорирование антигена, активную супрессию, апоптоз, редактирование рецепторов [23]. В последние годы расширились представления о механизмах периферической иммунной толерантности, и показано участие в ней стромальных клеток лимфоузлов – фибробластических ретикулярных клеток и лимфатических эндотелиальных клеток [24].

Остается загадкой, какой ИЭ окажется вредоносным и посредством какого механизма малая доза вакцины, введенная далеко от органа-мишени, запускает нередко не только органные, но и системные поражения в организме. В качестве возможных триггеров аутоиммунной реакции могут выступать и нуклеиновые кислоты, в частности, РНК. Присутствие в клетках врожденной ИС большого числа их сенсоров переместило фокус исследований патогенеза аутоиммунных поражений к распознаванию чужеродных РНК эндосомальными и цитозольными сенсорами как триггеров аутоиммунных нарушений [23]. Введение мРНК вакцин в организм сопровождается умеренной и редко сильной реакцией в местах инъекции, вызывая иногда и серьезные осложнения [25]. Хотя при использовании мРНК в качестве вакцины предварительно над ней осуществляют ряд модификаций для стабилизации ее структуры и оптимизируют состав кодонов для увеличения ее транслируемости, она представляется как наиболее трудно предсказуемая в отношении эффективности и длительности вызываемого ею иммунитета. Для проявления своего действия мРНК-вакцина должна первоначально транслироваться в белковый продукт, после чего ИЭ последнего будут презентированы МНС. Для ДНК-вакцин необходим еще один дополнительный

этап – транскрипция ДНК в РНК. Реагирование ИС на введенную в организм дозу мРНК/ДНК-вакцины может привести к ее расщеплению (особенно будет подвержена этому длинная мРНК вакцины S-белка SARS-CoV-2), снижению трансляции ее в белок и, соответственно, к уменьшению иммуногенности. Живая природа сотнями тысячелетий «шлифует» структуру генов и белков вирусов, чтобы придать им совершенство в распространении и выживании. Опыт же создания мРНК-вакцин простирается лишь на три последних десятилетия, и, по-видимому, рано рассматривать их как совершенные. На сегодня нет ни одной лицензированной мРНК-вакцины ни к одному из инфекционных агентов. Если сравнивать РНК/ДНК-вакцины с белковыми вакцинами, то у первых более длинный путь до стадии реализации их иммуногенности и больше шансов быть разрушенными (частично или полностью), прежде чем они обретут ее. В этом аспекте мРНК-вакцины, как и ДНК-вакцины, не являются идеальными платформами для экспрессии ИЭ в организме. Другой риск с мРНК вакцинами связан с неопределенностью эффектов ее модификации и оптимизации кодонов на котрасляционное формирование третичной структуры белка и экспозицию в нем ИЭ. Не будет удивительным, что мРНК вакцины против SARS-CoV-2 не окажутся в лидерах среди других вакцин.

Неопределенность с выбором ИЭ для вакцины снижается относительно белков органов с иммунной привилегией (мозг, глаза, яички, ногти, волосные мешочки, печень, кишечник и др.). Например, в мозгу транскрибируется до 10% генома, в то время как в других органах – лишь 3–5% [26], т.е., учитывая и принадлежность мозга к иммунопривилегированным органам, к подавляющей части белков мозга толерантности не существует. Это подтверждается при паранеопластической нейродегенерации, проявляющейся неврологическими нарушениями, которые развиваются у пациентов со злокачественными опухолями (чаще всего при раке молочной железы и яичников, мелкоклеточном раке легких) и обусловлены эффективным противоопухолевым иммунным ответом против антигенов раковых клеток, которые в норме экспрессируются исключительно в мозгу. Их обозначают как онконейральные антигены. Индуцированный онконейральными антигенами иммунный ответ нередко супрессирует рост опухоли. Успешный иммунный ответ и сами опухоли не были бы замечены, если бы иммунные клетки, первоначально распознающие онконейральные антигены в опухоли, не проникали бы в мозг, вызывая аутоиммунную реакцию против нейронов, экспрессирующих те же антигены, что и возникшая опухоль, и соответствующую неврологическую симптоматику [27,28].

При включении в состав вакцины белка вируса с фрагментом, гомологичным белку мозга, с большой вероятностью можно ожидать образования к нему антител и развития поствакцинальных

осложнений в центральной нервной системе. Подтверждением этому служит известный прецедент во время пандемии гриппа 2009 – 2010 гг. Так, в случае использования противогриппозной вакцины Pandemrix была показана связь возникновения повышенной частоты нарколепсии с наличием в нуклеопротеине вакцинного штамма гриппа H1N1 пептида, гомологичного фрагменту внеклеточной петли рецептора гипокретина 2 (орексина) человека, поскольку антитела к нуклеопротеину реагировали перекрестно с гомологичным пептидом гипокретина 2 [29]. Дополнительно в нуклеопротеине были также выявлены фрагменты, гомологичные фрагментам мелатонинового и глутаматного рецепторов [30], что позволяет предполагать более сложный механизм поствакцинального нарушения механизмов сна и бодрствования. Нарколепсия, возможно, не единственное поствакцинальное последствие, и ее выявлению способствовала, по-видимому, легкость ее клинического распознавания, не требовавшего каких-либо специальных методов.

Для прогнозирования возможной эффективности любой конструируемой вакцины исключение в ней только последовательностей, гомологичных белкам человека, было бы недостаточным, поскольку человек заселен множеством микроорганизмов. Если выявление в белках вируса последовательностей, гомологичных белкам человека, представляется важным в отношении прогнозирования как его иммунодоминантности, так и риска возникновения аутоиммунных осложнений при вакцинации, то выявление гомологии белков вакцинного вируса с белками вирусов, постоянно заселяющих человека, представляется важным преимущественно в отношении прогнозирования доминантности ИЭ белков вакцинного вируса. Оценка влияния иммуноэпитопного потенциала микробиома на эффективность вакцины пока представляет непреодолимую проблему, но в минимальном варианте следовало бы учесть репертуар ИЭ известных вирусов, выявляемых у 70–100 % человечества. К таковым относятся цирковирус, большинство представителей вируса герпеса, полиомавирусы ВК и JC, аденоассоциированный вирус [31]. Значительная часть населения поражена и другими вирусами, иммуногенный потенциал которых также следует учитывать как при дизайне вакцины, так и в рекомендациях о возможности ее использования среди этой части населения.

Попытаемся кратко сформулировать рекомендации по ограничению выбора белков для вакцины. В контексте ИЭКРБ выбор белка из протеома патогена для включения его в состав вакцины уже на самых ранних этапах эксперимента должен быть обоснован хотя бы тем, что он минимально охвачен ИЭКРБ по P_{14} и P_9 . С этой целью следует провести иммуноинформационный анализ белков инфекционного патогена на наличие в них P_{14} и P_9 , гомологичных

соответственно не только белкам человека, но и белкам других вирусов, включая и вирусы, заселяющие 70–100% населения. Вакцинный белок должен содержать минимальное число последовательностей, гомологичных белкам человека; ограниченно допустимо присутствие в нем последовательностей, гомологичных тем белкам человека, которые не попадают в циркуляцию или не экспрессированы на поверхности клеток. Необходимо избегать последовательностей, гомологичных белкам иммунопривитых органов, особенно мозга.

К перечисленным ограничениям следовало бы прибавить отказ от использования в качестве векторов вакцины тех вирусов, для которых ранее было установлено возникновение феномена иммунного импринтинга. Последний обусловлен реципрокными эффектами повторного инфицирования вирусом и иммунной памятью, сформировавшейся предшествующими вакцинацией против этого вируса или первичной инфекцией. Этот феномен описан для ВИЧ, вирусов гриппа, кори, Эбола, Денге, респираторно-синцитиального вируса и др. [32,33] и объясним в рамках ИЭКРБ [5,30]. В этой связи возникают сомнения относительно рациональности выбора аденовируса, как и вирусов кори и гриппа, против которых во всем мире регулярно применяется вакцинация, в качестве векторов вакцины против SARS-Cov-2. При использовании векторных вакцин игнорируются возможности проявления феноменов иммунного импринтинга и иммунодоминантности антигенов, что можно рассматривать как стремление исследователей быть умнее природы, которая в итоге опрокидывает их попытки обойти установленные ею границы возможного. Как известно, недостатки векторных вакцин следующие:

- 1) сами векторы являются антигенными, могут быть иммунодоминантными и реактогенными, вызывать нежелательные эффекты;
- 2) предсуществующий иммунитет к ранее перенесенной инфекции либо вакцинации может существенно ограничить потенциал вакцины из-за выведения вируса-вектора из организма до того, как он сможет инфицировать клетки хозяина и обеспечить экспрессию введенных в него генов патогена;
- 3) при повторном введении вектора для усиления иммунного ответа сформировавшийся к нему в организме хозяина иммунный ответ нейтрализует его действие. Шансы на успех у векторных вакцин не гарантированы и весьма скромны, что подтверждают первые результаты испытания вакцины против SARS-CoV-2 на основе аденовирусного вектора [34]. Имея в виду феномен иммунного импринтинга, неясно, как вакцинация против Covid-19 проявится у лиц, уже переболевших им явно или бессимптомно. Остается ждать, пополнят ли коронавирусы приведенный выше список вирусов.

Традиционно выявление аутоиммунных, как и других, осложнений от вакцин-кандидатов и отсеивание

подавляющего большинства их приходится на стадии II–III клинических испытаний. Дополнительная информация поступает на стадии IV, после одобрения регуляторными органами использования вакцины в национальном масштабе и по прошествии кампании массовой иммунизации населения. Проявляются аутоиммунные отклонения по-разному: от бессимптомной циркуляции аутореактивных клеток и аутоантител и повышения их содержания до органных и системных поражений. Кроме того, важными параметрами любой вакцины служат такие характеристики, как стабильность (длительность) вызываемого иммунитета, полнота подавления основной симптоматики, вызываемой инфекционным агентом, и способность формировать защитный уровень иммунитета у всех категорий населения. (В последнем случае имеются в виду ограничения в возникновении иммунитета после вакцинации у пожилых из-за снижения у них потенциала формирования новых В-клеток памяти и наивных Т-клеток ИС.) Следовательно, оценка безвредности, переносимости и эффективности вакцины, как и длительности вызываемого ею иммунитета, не терпит спешки и, как сказано в эпиграфе статьи, суеты. (После прививки вакцины против гриппа, например, могут утрачивать свой протективный потенциал задолго до окончания эпидсезона, т.е. привитый может заболеть гриппом повторно в течение эпидсезона. Нужна ли такая вакцина против Covid-19?). При длительности эпидсезона в полгода заполучить за 3–4 месяца эти характеристики вакцины нереально. Однако современные биотехнологии позволяют отклонить вакцину уже на самом первом этапе преклинических испытаний – до оценки ее специфичности к инфекционному агенту. Существующие тест-системы для выявления аутореактивных антител, охватывая более 10 000 человеческих белков, позволяют исключить вакцину из дальнейших исследований уже на самом начальном этапе ее испытаний и с меньшими затратами сойти с продолжающейся гонки, обратившись к другой стратегии дизайна вакцины.

Альтернативой вакцинам против Covid-19 рассматривается пассивная иммунотерапия моноклональными антителами, специфичными к SARS-CoV-2, либо антителами с широким спектром специфичности. Ограничениями для их использования может быть высокая стоимость, аутореактивность, возникновение к ним резистентных мутантов коронавирусов.

По своей природе гены вирусов, как и гены их хозяев, являются химерными, поскольку в эволюции активно происходит генетическая рекомбинация между вирусами и их хозяевами, а также между самими вирусами, что обуславливает присутствие и в белках вирусов, и в белках человека гомологичных последовательностей [35]. Это может быть причиной возникновения ранее упомянутых двух типов поствакцинальных рисков – аутоиммунных заболеваний и гетерологичного иммунитета.

В первом варианте под гетерологичным иммунитетом подразумевается активация иммунной памяти к ранее вторгавшемуся инфекционному агенту новым неродственным ему патогеном, которая может изменить реакцию ИС на новый патоген и вызываемый им инфекционный процесс, усиливая либо ослабляя его. Во втором варианте гетерологичный иммунитет на инфекцию может быть вызван предшествующей ей вакцинацией, когда белковые компоненты привитой вакцины и патогена, вызвавшего инфекцию, содержат гомологичные последовательности. Так, перекрестная реактивность CD8 Т-лимфоцитов к вирусу гриппа и вирусу Эпштейна-Барр или к вирусу гриппа и вирусу гепатита С может являться причиной развития соответственно острого инфекционного мононуклеоза и молниеносного гепатита [36].

Поскольку SARS-Cov-2 имеет самый крупный геном среди РНК-содержащих вирусов, то априорно можно полагать, что его белки содержат последовательности, гомологичные белкам других вирусов, и высока вероятность, что изготавливаемые из SARS-Cov-2 вакцины будут носителями упомянутых гомологичных последовательностей, потенциально способных, как и сам SARS-Cov-2, вызывать различные осложнения в зависимости от того, какие белки или их фрагменты будут использованы в качестве иммуногенов. Почти все вирусы, включенные в сравнительный анализ данного исследования, имеют гомологичные последовательности с белками SARS-Cov-2, и многие из них содержат по несколько гомологичных P_9 для разных белков. В таблице 2 представлены некоторые примеры P_9 S-белка SARS-Cov-2, гомологичных поверхностным белкам разных вирусов. Не отражает ли это перекрестное пептидное родство SARS-Cov-2 с другими вирусами пеструю клиническую симптоматику Covid-19? Обратимся лишь к двум параллелям. В S-белке SARS-Cov-2 присутствуют P_9 , гомологичные таковым в трех поверхностных белках респираторно-синцитиального вируса человека – главном поверхностном гликопротеине, гликопротеине слияния и матриксном белке. Ранее с вакциной против SARS-Cov, на основе S-белка были выявлены осложнения (отягощение заболевания и иммунопатология, проявлявшаяся эозинофильной инфильтрацией и Th2 опосредованным повреждением альвеол), которые были сходны с давно известными особенностями проявления поражений респираторно-синцитиальным вирусом детей и экспериментальных животных [37]. В числе кожных симптомов Covid-19 отмечается сыпь. Среди вирусов, имеющих гомологичные последовательности с S-белком SARS-Cov-2, вирусы кори, краснухи и герпеса, и характерными типичными проявлениями их инфекций является сыпь. Случаен ли этот перекрест у вирусов по проявлению клинических симптомов и наличие гомологичных последовательностей? Не являются ли гомологичные последовательности у белков вирусов

молекулярными маркерами клинических проявлений инфекций? Это вопросы, ждущие ответа. При наличии такого большого числа перекрестов SARS-Cov-2 по гомологичным последовательностям со множеством других вирусов предстоит долгий путь по выяснению, как вакцинация против Covid-19 скажется на протекании последующих после нее инфекций, вызываемых другими вирусами.

Потребуется и прослеживание влияния вакцинации против SARS-Cov-2 на иммунитет к другим инфекционным патогенам, сформировавшийся в результате предшествовавших прививок или перенесенных инфекций. Любая вакцинация изменяет гомеостаз клеток памяти и наивных клеток адаптивной ИС, влияя на количественные соотношения между вновь возникшими и ранее сформировавшимися к другим патогенам клетками памяти и снижая долю наивных клеток. Вакцины могут вызывать гетерологичные и неспецифические эффекты. Если убитая комбинированная вакцина против коклюша, дифтерии и столбняка ассоциировалась с вредными эффектами, то вакцины против оспы, туберкулеза или кори имели протективное действие, снижая заболеваемость и смертность от неродственных патогенов [38].

Неодинаковые исходы пандемии Covid-19 в разных странах позволили установить связь между смертностью от Covid-19 и тем, как давно и насколько широко в странах применяли предназначенную для борьбы с туберкулезом вакцину БЦЖ [39]. Поскольку в гонку за вакциной против SARS-Cov-2 включились исследователи из разных стран, то можно предвидеть разные результаты испытаний эффективности одной и той же вакцины в разных группах испытуемых. К примеру, в США, где не используется прививка БЦЖ, непривитые БЦЖ волонтеры будут, вероятно, более реактивны на вакцину против SARS-Cov-2, чем группа волонтеров из России, где прививка БЦЖ обязательна и охватывает практически все население. Исходя из резко отличной чувствительности к Covid-19 детей и лиц пожилого возраста, обеспечить их защиту от него одной и той же вакциной представляется маловероятным. Различия в государственных программах вакцинации населения, по-видимому, также повлияют на охват вакцинацией против Covid-19 в разных странах, как и, по-видимому, этнические особенности, имея в виду существенно более низкие показатели летальности от Covid-19 в странах Азиатского региона. Особенности эпидемиологии Covid-19 в разных географических регионах и в разных возрастных группах не объяснимы одной истиной. Поэтому изначально следует ориентироваться на поиски разных вариантов вакцин к SARS-Cov-2 и внимательно относиться на всех стадиях клинического испытания к подбору состава добровольцев и при анализе результатов учитывать их возраст, группу крови, этническую принадлежность и иммунологическую историю жизни, включая вакцинацию, и перенесенные инфекционные болезни.

В заключение хотелось бы еще раз подчеркнуть, что, несомненно, состав вакцин против SARS-Cov-2 будет влиять на спектр иммунодоминантных эпитопов и характер иммунного ответа, как и способы иммунизации и генетические особенности иммунизируемых субъектов, в числе которых состав гаплотипов их МНС. Уменьшить и даже избежать риски возможно, проводя превентивный иммуноинформационный анализ белков вакцинальных вирусов на наличие в них ИЭ, гомологичных таковым в белках человека, и непременно преклинический анализ специфичности индуцируемых вакциной антител на микропанелях с многотысячным набором образцов белков человека.

На современном этапе развития научных технологий возникли возможности многомерного анализа, позволяющего одновременно обозреть множества разных объектов по разным параметрами и прогнозировать сложные феномены. Примером этому служит полезность использования иммуноинформационного анализа белков коронавируса в рамках концепта ПКРБ/ИЭКРБ.

После разработки вакцины против Covid-19 станет ли она вакциной *ad hoc* (лат. специально для этого), и обретет ли мир большую биобезопасность в отношении новых коронавирусных пандемий? Грядущей осенью мир ждет новая волна Covid-19, а в последующем при нарастающем коллективном иммунитете и ослабевающем пандемическом потенциале SARS-Cov-2 вакцину против него ждет, по-видимому, та же участь, что и вакцину против пандемии гриппа 2009–2010 гг. Что же касается биобезопасности мира, то с возникновением Covid-19 риски возможных новых пандемий разного происхождения увеличились. Если в течение 1918–2020 гг. мир подвергался 4 раза пандемиям гриппа с периодом 10–40 лет, то на протяжении 2002–2020 гг. отмечены 2 коронавирусные вспышки (SARS и MERS) и пандемия Covid-19 с интервалом в 7–10 лет. В случае гриппа мы уже вступили в период, когда с каждым годом возрастает вероятность возникновения новой пандемии гриппа, и уже обновлены программы и стратегии контроля и предотвращения заболеваемости гриппом, в которых делается акцент на подготовку к пандемии и создание универсальных вакцин против него.

Многочисленность семейства *Coronaviridae* служит свидетельством распространенности коронавирусов, как и вирусов гриппа, среди многих животных, окружающих человека и являющихся неиссякаемым резервуаром для возникновения новых их подтипов, которые потенциально могли бы поражать и человека. Время их возникновения и эпидемический потенциал молекулярных характеристик новых подтипов пока непредсказуемы, и вакцины из SARS-Cov-2 в отношении их, вероятно, будут малоэффективными. Более высокая, чем для гриппа, вероятность возникновения коронавирусных вспышек разных масштабов

требует безотлагательного тесного международного сотрудничества в формировании стратегий и программ противодействия им.

Что предвещает более частую, чем в случае гриппа, череду коронавирусных вспышек и пандемий в будущем? Ответ на этот вопрос связан с различиями в механизмах изменчивости генома коронавирусов и вирусов гриппа. Для вирусов гриппа характерны фрагментарность генома и малая изменчивость (у представителей одного и того же типа) длины генов, эволюция генома посредством реассортации (обмена генами) и мутаций при отсутствии редактирующей способности у РНК-зависимой РНК-полимеразы. Цикл репликации у вирусов гриппа значительно короче, и поэтому для них характерна высокая продуктивность со значительной вариабельностью первичных структур генов вирионов, о чем свидетельствует, например, характеристика гемагглютинаина: на протяжении эпидсезона гриппа циркулируют штаммы с резко варьирующим числом мутаций в их генах гемагглютинаина, затрагивая более 300 позиций в его первичной структуре [40]. Мутируют и остальные гены, но для сохранения их функциональности природа наложила большие ограничения в изменении их структуры. Из-за стохастичности процессов репродукции и эволюции генома вероятность образования жизнеспособных вирионов вирусов гриппа очень низкая, и еще более низка вероятность формирования штаммов с пандемическим потенциалом, требующего тонкого согласования между самими генами вируса и с внутриклеточной средой хозяина, что и определяет сильно колеблющуюся периодичность возникновения пандемий гриппа.

В отличие от вируса гриппа у коронавирусов геном представлен одноцепочечной (+) РНК длиной около 30 000 нуклеотидов, их РНК-зависимая РНК-полимераза наделена редактирующей способностью. Последнюю связывают с участием комплексирующихся неструктурных белков *nsr14* и *nsr10*, опосредующих экзорибонуклеазную активность и снижающих скорость мутирования коронавирусов в 15–20 раз, позволяя дикому типу коронавирусов избегать катастрофических ошибок, возникающих при репродукции, и экспансировать размеры генома. Механизмы его эволюции опосредуются через рекомбинацию, дупликацию генов, эволюцию генов-паралогов и *de novo* генерацию генов путем использования перекрывающихся рамок считывания [41].

Из-за фрагментарности генома вируса гриппа процесс репродукции всех его генов происходит одновременно, а позднее всего завершается репродукция самого длинного PB2 гена (2341 нуклеотидов у вирусов типа А). В отличие от вируса гриппа геном коронавирусов – одноцепочечная (+) РНК длиной около 30 000 нуклеотидов, и, следовательно, время репродукции ее более чем на порядок выше, чем время репродукции гена PB2 вируса гриппа. Однако представленность генома

коронавирусов одной односпиральной (+)РНК является преимуществом по сравнению с фрагментарным геномом из односпиральных (-)РНК вирусов гриппа. Свидетельством перспективности служат значительное преобладание в природе разнообразия вирусов, геном которых представлен односпиральной (+)РНК, над вирусами с другим типом генома, инфекционность самой (+)РНК и упрощенный, по сравнению с вирусами гриппа, механизм сборки вириона, исключающий формирование неукomплектованных геномом вирионов. Более сложный механизм эволюции геномов коронавирусов и механизм редактирования репликации генома облегчают, по-видимому, возникновение большего числа нового жизнеспособного потомства и сохранение у него тех приобретений, которые позволяют адаптироваться в новых хозяевах и чаще формировать (применительно к человеку) пандемический потенциал.

Наиболее распространенными хозяевами коронавирусов являются птицы, грызуны и летучие мыши. Особая роль последних в порождении штаммов коронавирусов, пандемичных для человека, вероятно, определяется тем, что температура человеческого тела приходится на медиану физиологического интервала колебания температуры тела летучих мышей, что, вероятно, благоприятствует прямому переносу коронавирусов летучих мышей на человека. Для сравнения: температура тела у домовых мышей 38,5 °С – 39,3 °С, а у птиц 42,5 °С – 45,5 °С. Человек не является для коронавирусов новым хозяином, и ежегодное возникновение острых респираторных вирусных заболеваний обуславливается и их участием. Новым хозяином он оказался для возникшего SARS-Cov2. Примечательно, что перенос на человека вирусов гриппа, хозяином которых являются летучие мыши, не замечен.

Масштаб и характер мутирования генома SARS-Cov-2 и генов вируса гриппа резко отличны. Рекомендуемая ежегодно ВОЗ формула противогриппозной вакцины из 4 подтипов вирусов гриппа предполагает, что каждый штамм в ней является доминирующим в эпидсезоне и в основном отображает многообразие циркулирующих штаммов этого подтипа, что нередко не соответствует действительности из-за высокой мутабельности вирусов гриппа.

Несмотря на многочисленные исследования, ни одна из вакцин против коронавирусов на данный момент не лицензирована, и соответственно

медицина не располагает, как в случае гриппа, опытом по противостоянию им посредством вакцинации. Естественно, возникает вопрос о формуле вакцины против Covid-19. При существовании нескольких мутантных вариантов (штаммов) SARS-Cov-2 и их преимущественном распространении в отдельных географических регионах оптимальным, возможно, окажется создание «региональных» вариантов вакцин, отражающих особенности доминирующих в регионах штаммов SARS-Cov-2. Например, в США циркулирует и SARS-Cov-2 с мутацией D614 в S-белке, которая, как предполагается, сделала вирус более заразным и повлияла на характер пандемии Covid-19 в этой стране [42]. Это предположение согласуется с нашими данными о приобретении SARS-Cov-2 контагиозности за счет снижения в S1-субъединице его S-белка доли отрицательно заряженных аминокислот [6]. Поэтому при разработке вакцин к SARS-Cov-2 следует учитывать доминирующий в регионе штамм. Для выявления последнего применимы те же алгоритмы, что и для вирусов гриппа, являющиеся, по существу, анализом больших баз данных [40].

Сотрудничество по борьбе с Covid-19 не должно ограничиваться только созданием вакцин, но и иметь другие подходы в противостоянии инфекции, в частности, активацию клеток адаптивной ИС, которые при Covid-19 истощены и «изношены». Именно с восстановлением Т-клеток сопряжен процесс выздоровления пациента. Наш организм наделен богатым репертуаром регуляторных пептидов, в числе которых и пептиды из тимуса, активирующие адаптивную ИС. Рекомендация по использованию их при терапии Covid-19 [6] нашла уже успешное подтверждение в применении тимозина $\alpha 1$, снижавшего летальность при тяжелом течении инфекции [43]. Замечательная особенность регуляторных пептидов заключается в том, что они являются компонентами нашего организма, наделенными разнообразием функций, что обеспечивает им иммунную совместимость и минимум противопоказаний [44].

Актуальность развития этого направления аргументируется многочисленностью выявленных гомологичных последовательностей между белками коронавируса SARS-Cov-2 и белками человека и других вирусов, не исключая возможность возникновения непреодолимых трудностей в создании вакцины против Covid-19, как и в случае ряда других опасных инфекций.

Литература

1. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020 Jun;20(6):363–374. doi: 10.1038/s41577-020-0311-8.
2. Ho MS, Chen WJ, Chen HY, et al. Neutralizing antibody response and SARS severity. *Emerg Infect Dis* 2005;11(11):1730–7. PMID: 16318725.
3. Peiris JS, Chu CM, Cheng VCC, et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet.* 2003;361:1767–1772. doi: 10.1016/s0140-6736(03)13412-5.
4. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol.* doi: 10.12932/AP-200220-0772.
5. Харченко Е. П. Иммуноэпитопный континуум родства белков и полиреактивность и аутореактивность антител. *Медицинская иммунология.* 2015. Т. 17, N. 4. С. 335–346. doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-335-346.

6. Харченко Е. П. Коронавирус SARS-Cov-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии. // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020. Т. 19(2). С. 13–30. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30.
7. Vujčić AD, Gemović B, Veljković V, et al. Natural autoantibodies in healthy neonatal recognizing a peptide derived from the second conserved region of HIV-1 gp120. *Vojnosanit Pregl.* 2014;71(4):352–361. doi:10.2298/vsp1404352d.
8. Cohen IR, Hershberg U, Sorin S. Antigen-receptor degeneracy and immunological paradigms. *Mol. Immunol.* 2004;40:993–996. doi: 10.1016/j.molimm.2003.11.020.
9. Mellor AJ, Munn DH. Immune privilege: a recurrent theme in immunoregulation. *Immunol. Rev.* 2006;213:5–11.
10. Parnes O. From interception to incorporation: degeneracy and promiscuous recognition as precursors of a paradigm shift in immunology. *Mol. Immunol.* 2004;40:985–991. doi:10.1016/j.molimm.2003.11.021
11. Sercarz EE, Mavarakis E. Recognition and function in a degenerative immune system. *Mol. Immunol.* 2004;40:1003–1008. doi: 10.1016/j.molimm.2003.11.002.
12. Wucherpfennig KW. T cell receptor cross reactivity as a general property of T cell recognition. *Mol. Immunol.* 2004;40:1009–1017. doi:10.1016/j.molimm.2003.11.003.
13. Rothstein T, Griffin DO, Holodick N, et al. Human B-1 cells take the stage. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2013;1285:97–114. doi: 10.1111/nyas.12137.
14. Van Regenmortel M. An outdated notion of antibody specificity is one of the major detrimental assumptions of the structure-based reverse vaccinology paradigm, which prevented it from helping to develop an effective HIV-1 vaccine. *Frontiers in Immunology.* 2014;5:1–8. doi: 10.3389/fimmu.2014.00593.
15. Nagele EP, Han M, Acharya NK, et al. Natural IgG autoantibodies are abundant and ubiquitous in human sera, and their number is influenced by age, gender, and disease. *PLoS ONE.* 2013;8(4):e60726. doi: 10.1371/journal.pone.0060726.
16. Blum JS, Wearsch PA, Cresswell P. Pathways of Antigen Processing. *Annu. Rev. Immunol.* 2013;31:443–473. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095910.
17. Chemali M, Radtke K, Desjardins M, et al. Alternative pathways for MHC class I presentation: a new function for autophagy. *Cell. Mol. Life Sci.* 2011;68:1533–1541. doi: 10.1007/s00018-011-0660-3.
18. Basler M, Kirk CJ, Groettrup M. The immunoproteasome in antigen processing and other immunological functions. *Current Opinion in Immunology.* 2012;25:1–7. doi: 10.1016/j.coi.2012.11.004.
19. Sijts EJ, Kloetzel P-M. The role of the proteasome in the generation of MHC class I ligands and immune responses. *Cell. Mol. Life Sci.* 2011;68:1491–1502. doi: 10.1007/s00018-011-0657-y.
20. Ашмарин И. П., Фрейдлин И. С. Гипотеза об антителах как новейших регуляторах физиологических функций, созданных эволюцией. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии, 1989. Т. 25, № 2. С. 176–181.
21. Plotkin SA. Correlates of protection induced by vaccination. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010;17(7):1055–1065. doi: 10.1128/CI.00131-10.
22. Mathis D, Benoist C. Aire. *Annu. Rev. Immunol.* 2009;27:287–312. doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141532.
23. Theofilopoulos AN, Kono DH, Baccala R. The multiple pathways to autoimmunity. *Nature Immunology.* 2017;18(7):716–724. doi:10.1038/ni.3731.
24. Fletcher AL, Malhotra D, Turley SJ. Lymph node stroma broaden the peripheral tolerance paradigm. *Trends in Immunology.* 2011;32(1):12–18. doi: 10.1016/j.it.2010.11.002.
25. Alberer M, Gnad-Vogt U, von Sonnenburg F, et al. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first in human phase 1 clinical trial. *Lancet* 2017 Sep 25;390(10101):1511–1520. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31665-3.
26. McCarthy BJ, Nishiura JT, Doenecke D, et al. Transcription and chromatin structure. *Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol.* 1974;38:763–771. doi: 10.1101/sqb.1974.038.01.081.
27. Albert ML, Darnell RB. Paraneoplastic neurological degenerations: keys to tumor immunity. *Nat. Rev. Cancer.* 2004;4(1):36–44. doi: 10.1038/nrc1255.
28. Roberts WK, Darnell RB. Neurobiology of the paraneoplastic neurological degenerations. *Cur. Opinion Immunol.* 2004;16(5):616–622. doi: 10.1016/j.coi.2004.07.009.
29. Ahmed SS, Volkmath W, Duca J, et al. Antibodies to influenza nucleoprotein cross-react with human hypocretin receptor 2. *Sci. Transl. Med.* 2015;7(294):ra105. doi: 10.1126/scitranslmed.aab2354.
30. Харченко Е. П. Возможные коллизии в иммунодиагностике вирусных инфекций и вакцинации. // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 157–164. doi: 10.15789/2220-7619-20162-157-164.
31. Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. Redefining Chronic Viral Infection. *Cell.* 2009;138:30–50. doi: 10.1016/j.cell.2009.06.036.
32. de Alwis R, Chen S, Gan ES, et al. Impact of immune enhancement on Covid-19 polyclonal hyperimmune globulin therapy and vaccine development. *EBioMedicine.* 2020;55(102768). doi:10.1016/j.ebiom.2020.102768.
33. Vatti A, Monsalve DM, Pacheco Y, et al. Original antigenic sin: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity.* 2017;83:12–21. doi:10.1016/j.jaut.2017.04.008.
34. Feng-Cai Zhu, Yu-Hua Li, Xu-Hua Guan, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet.* 2020 Jun 13;395(10240):1845–1854. doi:10.1016/S0140-6736(20)31208-3.
35. Харченко Е. П. Распространенность генетической рекомбинации между вирусами и человеком, возможное ее влияние на вакцинацию. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2019;18(5):4–14. doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-5.
36. Siwei Nie, Sue-Jane Lin, Sung-kwon Kim, et al. Pathological features of heterologous immunity are regulated by the private specificities of the immune repertoire. *Am J Pathol.* 2010 May;176(5):2107–12. doi: 10.2353/ajpath.2010.090656.
37. Jiang S, Bottazzi ME, Du L, et al. Roadmap to developing a recombinant coronavirus S protein receptor-binding domain vaccine for severe acute respiratory syndrome. *Expert Review of Vaccines.* 2012;11(12):1405–1413. doi: 10.1586/erv.12.126.
38. Gil A, Kenney LL, Mishra R, et al. Vaccination and heterologous immunity: educating the immune system. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015;109(1):62–69. doi:10.1093/trstmh/tru198.
39. Miller A, Reandelar MJ, Fasciglione K, et al. Correlation between universal BCG vaccination policy and reduced morbidity and mortality for COVID-19: an epidemiological study. *MedRxiv.* 2020. doi:10.1101/2020.03.24.20042937.
40. Харченко Е. П. Оптимизация прогнозирования вакцинных штаммов гриппа. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2019;18(1):4–17. doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17.
41. Peck KM, Burch CL, Heise MT, et al. Coronavirus Host Range Expansion and Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Emergence: Biochemical Mechanisms and Evolutionary Perspectives. *Annu Rev Virol.* 2015 Nov;2(1):95–117. doi:10.1146/annurev-virology-100114-055029.
42. Korber B, Fischer W/M, Gnanakaran S, et al. Spike mutation pipeline reveals the emergence of a more transmissible form of SARS-CoV-2. *BioRxiv.* 2020. doi:10.1101/2020.04.29.069054.
43. Yueping Liu, Yue Pang, Zhenhong Hu, et al. Thymosin alpha 1 (Ta1) reduces the mortality of severe COVID-19 by restoration of lymphocytopenia and reversion of exhausted T cells. *Clin Infect Dis.* 2020 May 22;ciaa630. doi:10.1093/cid/ciaa630/5842185.
44. Харченко Е. П. Эволюционные аспекты оценки возможного числа и источников белковых регуляторов в организме. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии – 1988. Т. 24. С. 240–250.

References

1. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020 Jun;20(6):363–374. doi: 10.1038/s41577-020-0311-8.
2. Ho MS, Chen WJ, Chen HY, et al. Neutralizing antibody response and SARS severity. *Emerg Infect Dis* 2005;11(11):1730–7. PMID: 16318725.
3. Peiris JS, Chu CM, Cheng VCC, et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet.* 2003;361:1767–1772. doi: 10.1016/s0140-6736(03)13412-5.
4. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol.* doi: 10.12932/AP-200220-0772.
5. Kharchenko EP. Immune epitope continuum of the protein relationships, poly- and autoreactivity of antibodies. *Medical Immunology.* 2015;17(4):335–346. (In Russ.). doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-335-346.
6. Kharchenko EP. The Coronavirus SARS-Cov-2: the characteristics of structural proteins, contagiousness, and possible immune collisions. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2020;19(2):13–30. https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30.
7. Vujčić AD, Gemović B, Veljković V, et al. Natural autoantibodies in healthy neonatal recognizing a peptide derived from the second conserved region of HIV-1 gp120. *Vojnosanit Pregl.* 2014; 71(4):352–361. doi:10.2298/vsp1404352d.
8. Cohen IR, Hershberg U, Sorin S. Antigen-receptor degeneracy and immunological paradigms. *Mol. Immunol.* 2004;40:993–996. doi: 10.1016/j.molimm.2003.11.020.
9. Mellor AJ, Munn DH. Immune privilege: a recurrent theme in immunoregulation. *Immunol. Rev.* 2006;213:5–11.
10. Parnes O. From interception to incorporation: degeneracy and promiscuous recognition as precursors of a paradigm shift in immunology. *Mol. Immunol.* 2004; 40:985–991. doi:10.1016/j.molimm.2003.11.021.
11. Sercarz EE, Mavarakis E. Recognition and function in a degenerative immune system. *Mol. Immunol.* 2004;40:1003–1008. doi: 10.1016/j.molimm.2003.11.002.
12. Wucherpfennig KW. T cell receptor cross reactivity as a general property of T cell recognition. *Mol. Immunol.* 2004;40:1009–1017. doi:10.1016/j.molimm.2003.11.003.
13. Rothstein T, Griffin DO, Holodick N, et al. Human B-1 cells take the stage. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2013;1285:97–114. doi: 10.1111/nyas.12137.
14. Van Regenmortel M. An outdated notion of antibody specificity is one of the major detrimental assumptions of the structure-based reverse vaccinology paradigm, which prevented it from helping to develop an effective HIV-1 vaccine. *Frontiers in Immunology.* 2014;5:1–8. doi: 10.3389/fimmu.2014.00593.

15. Nagele EP, Han M, Acharya NK, DeMarshall C, et al. Natural IgG autoantibodies are abundant and ubiquitous in human sera, and their number is influenced by age, gender, and disease. *PLoS ONE*. 2013;8(4):e60726. doi: 10.1371/journal.pone.0060726.
16. Blum JS, Wearsch PA, Cresswell P. Pathways of Antigen Processing. *Annu. Rev. Immunol.* 2013;31:443–473. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095910.
17. Chemali M, Radtke K, Desjardins M, et al. Alternative pathways for MHC class I presentation: a new function for autophagy. *Cell. Mol. Life Sci.* 2011;68:1533–1541. doi: 10.1007/s00018-011-0660-3.
18. Basler M, Kirk CJ, Groettrup M. The immunoproteasome in antigen processing and other immunological functions. *Current Opinion in Immunology.* 2012;25:1–7. doi: 10.1016/j.coi.2012.11.004.
19. Sijts EJ, Kloetzel P-M. The role of the proteasome in the generation of MHC class I ligands and immune responses. *Cell. Mol. Life Sci.* 2011;68:1491–1502. doi: 10.1007/s00018-011-0657-y.
20. Ashmarin IP, Freidlin IS. Hypothesis on antibodies as the latest regulators of physiological functions created by evolution. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology.* 1989;25(2):176–181. (In Russ.)
21. Plotkin SA. Correlates of protection induced by vaccination. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010;17(7):1055–1065. doi: 10.1128/CVI.00131-10.
22. Mathis D, Benoist C. Aire. *Annu. Rev. Immunol.* 2009;27:287–312. doi: 10.1146/annurev-immunol.25.022106.141532.
23. Theofilopoulos AN, Kono DH, Baccala R. The multiple pathways to autoimmunity. *Nature Immunology.* 2017;18(7):716–724. doi:10.1038/ni.3731.
24. Fletcher AL, Malhotra D, Turley SJ. Lymph node stroma broaden the peripheral tolerance paradigm. *Trends in Immunology.* 2011;32(1):12–18. doi:10.1016/j.it.2010.11.002.
25. Alberer M, Gnad-Vogt U, von Sonnenburg F, et al. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first in human phase 1 clinical trial. *Lancet* 2017 Sep 25;390(10101):1511–1520. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31665-3.
26. McCarthy BJ, Nishiura JT, Doenecke D, et al. Transcription and chromatin structure. *Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol.* 1974;38:763–771. doi: 10.1101/sqb.1974.038.01.081.
27. Albert ML, Darnell RB. Paraneoplastic neurological degenerations: keys to tumor immunity. *Nat. Rev. Cancer.* 2004;4(1):36–44. doi: 10.1038/nrc1255.
28. Roberts WK, Darnell RB. Neurobiology of the paraneoplastic neurological degenerations. *Cur. Opinion Immunol.* 2004;16(5):616–622. doi: 10.1016/j.coi.2004.07.009.
29. Ahmed SS, Volkman W, Duca J, et al. Antibodies to influenza nucleoprotein cross-react with human hypocretin receptor 2. *Sci. Transl. Med.* 2015;7(294):ra105. doi: 10.1126/scitranslmed.aab2354.
30. Kharchenko EP. The possible collisions in virus infection immunodiagnostics and vaccination. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2016;6(2):157–164. (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-157-164.
31. Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. Redefining Chronic Viral Infection. *Cell.* 2009;138:30–50. doi: 10.1016/j.cell.2009.06.036.
32. de Alwis R, Chen S, Gan ES, et al. Impact of immune enhancement on Covid-19 polyclonal hyperimmune globulin therapy and vaccine development. *EBioMedicine*. 2020;55(102768). doi:10.1016/j.ebiom.2020.102768.
33. Vatti A, Monsalve DM, Pacheco Y, et al. Original antigenic sin: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity.* 2017;83:12–21. doi:10.1016/j.jaut.2017.04.008.
34. Feng-Cai Zhu, Yu-Hua Li, Xu-Hua Guan, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet.* 2020 Jun 13;395(10240):1845–1854. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31208-3.
35. Kharchenko EP. The Occurrence of genetic recombination between viruses and human – its possible influence on vaccination. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2019;18(5):4–14 (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-6-4-14. doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-6-4-14.
36. Siwei Nie, Sue-Jane Lin, Sung-kwon Kim, et al. Pathological features of heterologous immunity are regulated by the private specificities of the immune repertoire. *Am J Pathol.* 2010 May;176(5):2107–12. doi: 10.2353/ajpath.2010.090656.
37. Jiang S, Bottazzi ME, Du L, et al. Roadmap to developing a recombinant coronavirus S protein receptor-binding domain vaccine for severe acute respiratory syndrome. // *Expert Review of Vaccines.* 2012;11(12):1405–1413. doi: 10.1586/erv.12.126.
38. Gil A, Kenney LL, Mishra R, et al. Vaccination and heterologous immunity: educating the immune system. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015;109(1):62–69. doi:10.1093/trstmh/tru198.
39. Miller A, Reandelar MJ, Fasciglione K, et al. Correlation between universal BCG vaccination policy and reduced morbidity and mortality for COVID-19: an epidemiological study. *MedRxiv.* 2020. doi:10.1101/2020.03.24.20042937.
40. Kharchenko EP. Optimization of the predicting of the influenza vaccine strains. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2019;18(1):4–17 (In Russ.). [https://doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17).
41. Peck KM, Burch CL, Heise MT, et al. Coronavirus Host Range Expansion and Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Emergence: Biochemical Mechanisms and Evolutionary Perspectives. *Annu Rev Virol.* 2015 Nov;2(1):95–117. doi:10.1146/annurev-virology-100114-055029.
42. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, et al. Spike mutation pipeline reveals the emergence of a more transmissible form of SARS-CoV-2. *BioRxiv.* 2020. doi:10.1101/2020.04.29.069054.
43. Yueping Liu, Yue Pang, Zhenhong Hu, et al. Thymosin alpha 1 (Ta1) reduces the mortality of severe COVID-19 by restoration of lymphocytopenia and reversion of exhausted T cells. *Clin Infect Dis.* 2020 May 22;ciaa630. doi:10.1093/cid/ciaa630/5842185.
44. Kharchenko EP. Evolutionary aspects of evaluation of possible number and sources of protein regulators in the organism. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology.* 1989;25(2):240–249 (In Russ.)

Об авторе

- **Евгений Петрович Харченко** – д. б. н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, РАН. 194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44. +7 (904) 338-22-80, neuro.children@mail.ru

Поступила: 10.05.2020. Принята к печати: 18.06.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Author

- **Eugene P. Kharchenko** – Dr. Sci. (Biol.), leader researcher of I. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy Sciences. 194223, Russian Federation, St. Petersburg, Toreza pr., 44. +7 (904) 338-22-80, neuro.children@mail.ru

Received: 10.05.2020. Accepted: 18.06.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

ПОЗДРАВЛЯЕМ!

ЕЛЕНА БОРИСОВНА БРУСИНА

Главный областной специалист по госпитальной эпидемиологии Минздрава Кузбасса, заместитель Председателя профильной комиссии по эпидемиологии Минздрава России, заведующая кафедрой эпидемиологии Кемеровского государственного медицинского университета, главный внештатный эпидемиолог Минздрава России по Сибирскому федеральному округу

удостоена Почетного звания «Лауреат премии Кузбасса»

за многогранную успешную деятельность в области здравоохранения, подготовки медицинских кадров и организацию мероприятий по профилактике и борьбе с коронавирусной инфекцией.

Редакция поздравляет Елену Борисовну, желает здоровья и дальнейших успехов на ниве сохранения эпидемиологического благополучия, в научной деятельности и подготовке кадров.



<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-21-27>

Исследование иммунобиологических свойств поверхностных белоксодержащих антигенов *Streptococcus pneumoniae* серотипа 6В

О. М. Кукина, И. М. Грубер*, Н. К. Ахматова, О. В. Жигунова, Е. А. Курбатова, Н. Б. Егорова, Н. Е. Ястребова

ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова

Резюме

Актуальность. Профилактика пневмококковой инфекции в РФ осуществляется импортными полисахаридными и конъюгированными вакцинами без учета циркуляции клинически значимых изолятов, что приводит к росту распространения ранее редких генетических линий и серотипов, не входящих в состав вакцин, а также не защищает от носительства. Проводится разработка серотипнезависимых вакцин на основе протективных белков и вариантов цельноклеточных вакцин, способных обеспечить перекрёстный протективный эффект против пневмококка. **Цель работы.** Исследование протективных свойств поверхностных белоксодержащих антигенов, выделенных из иммуногенного штамма *S. pneumoniae* 6В № 296 и определение их влияния на ключевые эффекторы врождённого иммунитета. **Материалы и методы.** *S. pneumoniae* 6В № 296 культивировали в полусинтетической среде в стационарных условиях при 5% CO₂ в течение 5–7 ч. Из инактивированных бактериальных клеток получали экспериментальный исходный белоксодержащий препарат – водный экстракт (В/Э), из которого выделяли фракцию 30–100 kDa (ФР), и из стерильного надосадка культуральной жидкости – белоксодержащий препарат – супернатант (С/Н); в препаратах выявляли содержание белка. Иммунобиологические свойства изучали после двукратной внутрибрюшинной иммунизации мышей линии BALB/c. Протективную активность определяли после заражения вирулентными штаммами *S. pneumoniae* серотипов 6В № 1121 и 3 № 3. Фагоцитарную активность изучали по количеству гранулоцитов, поглотивших убитые нагреванием FITC-меченые клетки *S. aureus*. Экспрессию Толл-подобных рецепторов (TLRs) и субпопуляционную структуру лимфоцитов селезенок мышей исследовали после окрашивания FITC/PE-мечеными моноклональными антителами с помощью проточной цитометрии. Статистический анализ материалов проведен с применением параметрических и непараметрических методов с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows», ver. 7.0 (Stat Soft, Inc). **Результаты.** Установлен протективный эффект ФР при заражении вирулентными штаммами гомологичного (6В № 1121) и гетерологичного серотипов (3 № 3); С/Н защищал мышей при заражении штаммом 3 № 3. Все исследуемые препараты приводили к увеличению количества фагоцитирующих клеток (наибольший эффект отмечен при иммунизации ФР и С/Н) и стимулировали численность TLR2 и TLR4 позитивных клеток (наблюдалось повышение количества TLR2-экспрессирующих клеток при иммунизации Ф/Р по сравнению с В/Э). При изучении иммунофенотипа лимфоцитов мышей отмечено, что препараты индуцировали экспрессию эффекторов врождённого и адаптивного иммунитета. **Выводы.** В результате проведённых исследований показано, что протективная поверхностная белоксодержащая фракция с ММ 30–100 kDa является наиболее активным, из испытанных экспериментальных препаратов, стимулятором врожденного и адаптивного иммунитета и требует дальнейшего изучения для определения возможности использования при разработке серотипнезависимой пневмококковой вакцины.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, серотипнезависимая протективная активность, экспериментальный белоксодержащий препарат

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Кукина О. М., Грубер И. М., Ахматова Н. К. и др. Исследование иммунобиологических свойств поверхностных белоксодержащих антигенов *Streptococcus pneumoniae* серотипа 6В. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):21–27. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-21-27>.

Study of the Immunobiological Properties of Surface Protein-Containing Antigens of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 6B

OM Kukina, IM Gruber**, NK Akhmatova, OV Zhigunova, EA Kurbatova, NB Egorova, NE Yastrebova
Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Abstract

Relevance. Prevention of pneumococcal infection in the Russian Federation is carried out by imported polysaccharide and conjugated vaccines without taking into account the circulation of clinically significant isolates, which leads to the growth of previously rare genetic

* Для переписки: Грубер Ирина Мироновна, д. м. н., профессор, заведующая лабораторией экспериментальной микробиологии НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. +7(495)-916-20-47, igruber_instmech@mail.ru. ©Кукина О. М. и др.

** For correspondence: Gruber Irina M., Dr. Sci (Med), Professor, Head of the Laboratory of experimental microbiology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, +7 (495)-916-20-47, igruber_instmech@mail.ru. ©Kukina OM et al.

lines and serotypes that are not part of the vaccines, and does not protect against the carriage. Serotype-independent vaccines are being developed based on protective proteins and variants of whole-cell vaccines capable of providing a cross-protective effect against pneumococcus. **Objective.** Investigation of the protective properties of surface protein-containing antigens isolated from the immunogenic strain *S. pneumoniae* 6B No. 296 and their influence on key effectors of innate immunity. **Materials and methods.** *S. pneumoniae* 6B No. 296 was cultured in a semi-synthetic medium under stationary conditions at 5% CO₂ for 5–7 hours. From inactivated bacterial cells, the experimental initial protein-containing preparation was obtained - an aqueous extract (A/E), from which a 30–100 kDa fraction (FR) isolated, and from the sterile culture supernatant, the protein-containing preparation – supernatant (S/N); in the preparations, the protein content was determined. Immunobiological properties were studied after double intraperitoneal immunization of BALB/c mice. The protective activity was determined after infection with virulent strains of *S. pneumoniae* serotypes 6B No. 1121 and No. 3. Phagocytic activity was studied by the number of granulocytes that absorbed heat-killed FITC-labeled *S. aureus* cells. The expression of Toll-like receptors (TLRs) and the subpopulation structure of mouse spleen lymphocytes were investigated after staining with FITC/PE-labeled monoclonal antibodies using flow cytometry. Statistical analysis of materials was carried out using parametric and non-parametric methods using the software package «Statistica for Windows», ver. 7.0 (Stat Soft, Inc). **Results.** The protective effect of FR upon infection with virulent strains of homologous (6B No. 1121) and heterologous serotypes (3 No. 3) was established; S/N protected mice when infected with strain 3 No. 3. All the studied drugs led to an increase in the number of phagocytic cells (the greatest effect was observed upon immunization with FR and S/N) and stimulated the expression of TLR2 and TLR4 positive cells (there was an increase in the number of TLR2-expressing cells during immunization with FR compared with A/E). When studying the immunophenotype of mouse lymphocytes, it was noted that the preparations induced the expression of effectors of innate and adaptive immunity. **Conclusions.** As a result of the studies, it was shown that the protective surface protein-containing fraction with MM 30–100 kDa is from tested experimental preparations the most active stimulator of innate and adaptive immunity, and requires further study to determine the possibility of using the serotype-independent pneumococcal vaccine in the development.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, serotype-independent protective activity, experimental protein-containing preparation
No conflict of interest to declare.

For citation: Kukina OM, Gruber IM, Akhmatova NK, et al. Study of the Immunobiological Properties of Surface Protein-Containing Antigens of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 6B. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):21–27. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-21-27>.

Введение

Streptococcus pneumoniae, грамположительные бактерии, являющиеся возбудителями широкого спектра заболеваний как инвазивного, так и неинвазивного характера, которые могут быть причиной серьёзных осложнений и приводить к летальному исходу, в первую очередь у детей и лиц старшего возраста.

В РФ с 2014 г. проводится вакцинопрофилактика импортными пневмококковыми (полисахаридной и конъюгированными) вакцинами, защищающими от наиболее распространённых в мире серотипов, что не обеспечивает защиту от других серотипов, не входящих в состав вакцин, а также от бескапсульных штаммов; отмечается появление редких генетических линий пневмококка, отличающихся множественной устойчивостью к антибиотикам; наблюдается появление других видов этиологически значимых возбудителей заболеваний респираторного тракта [1–3]. На Первой Всероссийской научно-практической конференции, посвящённой современной иммунопрофилактике, подчеркивалась необходимость «совершенствования стратегии и тактики иммунизации ... против таких бактериальных инфекций, как пневмококковая ... в целях не только снижения заболеваемости и смертности, но и профилактики формирования антибиотикорезистентности» [4]. В связи с этим актуальной является новая стратегия разработки серотипнезависимых вакцин на основе протективных белков и разных вариантов цельноклеточных вакцин [5–7].

Ранее при изучении водорастворимых поверхностных белоксодержащих антигенных компонентов штаммов 9 серотипов *S. pneumoniae* наиболее выраженный перекрестный протективный эффект был отмечен у антигенов штаммов пневмококка серотипов 6В, 10А и 19F [8]. При этом иммунизация мышей препаратом из штамма серотипа 6В показала 100% выживаемость при заражении 10⁵ и 10⁷ м.к. того же слабо вирулентного штамма в сравнении с 60% и 40% выживаемостью в контроле соответственно. В то же время при иммунизации мышей тем же препаратом заражение 10⁵ м.к. штамма гетерологичного серотипа 3 № 3 показало 30% выживаемость при 20% выживаемости в контроле. Однако эти экспериментальные препараты из штаммов различных серотипов, в том числе 6В, характеризовались высокой внутривидовой перекрестной серологической активностью, и в дальнейших исследованиях представляет интерес изучения их иммуногенных свойств.

Цель работы – изучить протективные свойства поверхностных белоксодержащих антигенов, выделенных из иммуногенного штамма *S. pneumoniae* серотипа 6В, и определить их влияние на ключевые эффекторы врождённого иммунитета.

Материалы и методы

Экспериментальные поверхностные белоксодержащие препараты получали из маловирулентного иммуногенного штамма *S. pneumoniae* 6В № 296, депонированного в коллекции ФГБУ «НЦЭСМП»

РФ (патент РФ № 2601158 от 06.11.2016 г.). Периодическое культивирование штамма-продуцента проводили в полусинтетической среде [9] в стационарных условиях при 5% CO₂ в течение 5–7 ч (до конца фазы экспоненциального роста). Из бактериальных клеток, осаждённых при центрифугировании полученной культуральной жидкости, инактивированных и высушенных диметилкетонем, методом водной экстракции выделяли бактериальный экстракт и его лиофильно высушивали (В/Э). Из полученного бактериального водного экстракта выделяли фракцию 30–100 kDa с использованием фильтров Amicon® Ultra (Millipore, Ирландия) с порогом отсечения 100 kDa и 30 kDa (ФР). Для получения препарата из супернатанта культуральной жидкости её подвергали фильтрации через стерилизующий фильтр с диаметром пор 0,22 µm (Millipore, США); белоксодержащие компоненты фильтрата осаждали сульфатом аммония (1:1); осадок, полученный после центрифугирования, ресуспендировали в дистиллированной воде и для освобождения от сульфата аммония проводили диализ против дистиллированной воды в течение 3 суток, после чего лиофильно высушивали (С/Н). В полученных препаратах определяли содержание белка по методу Лоури.

Иммунобиологические свойства препаратов изучали в экспериментах активной защиты мышей и с помощью методов исследования врождённого и адаптивного иммунитета. Для этого использовали мышей линии BALB/c (180 самцов, 12–14 г), полученных из питомника филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА, содержащихся в условиях вивария ФГБУН НИИВС им. И. И. Мечникова. Мышей выводили из эксперимента под эфирным наркозом. Все эксперименты на животных проводили в соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными (ГОСТ 33217-2014). Мышей (одинаковое количество в опытной и контрольной группах) иммунизировали внутрибрюшинно (в/бр) двукратно полученными белоксодержащими антигенами (опытная группа) с интервалом 14 суток. Разовую иммунизирующую дозу вводили в изотоническом растворе натрия хлорида в объеме 0,5 мл. Через 14 суток после второй иммунизации мышей опытной и контрольной (неиммунизированных) групп заражали в/бр в объеме 0,5 мл дозой 10⁴ микробных клеток (м.к.) штаммов *S. pneumoniae*, выращенных на кровяном агаре. Для заражения использованы вирулентные штаммы *S. pneumoniae* разных серотипов: 6В № 1121 (выделен из ликвора больного гнойным менингитом в ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), и 3№ 3 (коллекция ФГБУ «НЦЭСМП» РФ).

Влияние поверхностных белоксодержащих препаратов на ключевые эффекторы врождённого и адаптивного иммунитета определяли через 7 дней после второй иммунизации. Фагоцитарную активность оценивали по поглотительной способности гранулоцитов периферической крови

иммунизированных мышей (n = 5) в отношении убитых нагреванием микробных клеток *S. aureus*, окрашенных FITC. К периферической крови мышей прибавляли FITC-меченые бактерии (10⁹ микробных клеток/мкл). Количество гранулоцитов, захвативших FITC-меченые бактерии, выявляли с помощью проточной цитометрии (Cytomix FC-500, фирма «Beckman Coulter», США с СХР программным обеспечением). Гейт клеточной популяции определяли путем оценки фронтального и бокового светорассеивания и размера клеток; в каждом гейте оценивали 10 000 клеток. Результат представляли как процент гранулоцитов, фагоцитировавших убитые нагреванием FITC-меченые бактериальные клетки *S. aureus*. Для изучения экспрессии Толл-подобных рецепторов (TLRs) и субпопуляционной структуры лимфоцитов периферической крови мышей лимфоциты окрашивали согласно инструкции производителя (eBioscience, США) моноклональными антителами, мечеными флюорохромом к поверхностным клеточным маркерам (TLR2, TLR4, CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, МНС II, меченых FITC; CD45, CD25, NK1.1-PE; Foxp3). Для исследования Foxp3 клетки предварительно обрабатывали пермеабилзирующим буфером (Permeabilization Wash Buffer, Biolegend, США) согласно инструкции производителя. При учете результатов подсчитывали 5000 клеток в гейте.

Статистический анализ материалов проведен с применением параметрических и непараметрических методов с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows», ver. 7.0 (Stat Soft, Inc). Протективную активность препаратов оценивали по критерию согласия χ^2 и по показателю изучения динамики выживаемости мышей Z [10]. Средние выборочные значения количественных признаков приведены в виде Me (Q1–Q3), где Me – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q3 – верхний квартиль; использованы непараметрические методы – U-критерий Манна-Уитни, критерии согласия χ^2 и сравнения кривых выживаемости Z [10]. Во всех процедурах статистического анализа уровень значимости p принимался равным < 0,05.

Результаты и обсуждение

Как отмечено ранее [8], один из трёх антигенов штаммов пневмококка, обладающих перекрестной протективной активностью, – белоксодержащий препарат штамма *S. pneumoniae* 6В № 296, впоследствии депонированного как перспективный вакцинный штамм, использован в наших исследованиях в качестве модельного штамма при изучении трёх типов антигенов, полученных разными способами. Так, из инактивированных бактериальных клеток получали В/Э – исходный белоксодержащий препарат, из которого выделяли фракцию 30–100 kDa, и из стерильного супернатанта культуральной жидкости – белоксодержащий препарат – С/Н.

В таблице 1 представлены результаты изучения протективной активности поверхностных белоксодержащих

Original Articles

антигенов – В/Э, ФР и С/Н, которыми иммунизировали мышей и впоследствии заражали вирулентными штаммами *S. pneumoniae* гомологичного (6В № 1121) и гетерологичного (3 № 3) серотипов.

В первом эксперименте при заражении вирулентным штаммом *S. pneumoniae* гомологичного серотипа 6В № 1121 установлены значимые различия в выживаемости мышей, иммунизированных лишь фракцией 30 – 100 kDa, по сравнению с контролем, на основании расчета критерия Z, характеризующего сравнительную динамику выживаемости мышей: $Z = 2,01$, $p < 0,05$. Во втором эксперименте при заражении мышей дозой 10^4 м.к. вирулентного штамма *S. pneumoniae* гетерологичного серотипа 3 № 3, соответствующей $18 LD_{50}$ (LD_{50} штамма $5,6 \times 10^2$ м.к) подтверждена протективная активность фракции 30–100 kDa, при иммунизации которой после заражения выжило 60% мышей по сравнению со 100% гибелью в контроле ($Z = 2,28$, $p < 0,05$). При сравнении результатов анализа по критерию согласия также отмечены значимые различия между мышами, иммунизированными фракцией и не иммунизированными (контрольными) – $\chi^2 = 5,95$, ($p < 0,02$). Кроме того, определен протективный

эффект супернатанта по сравнению с контролем ($Z = 2,28$, $p < 0,05$).

Для выяснения действия изучаемых поверхностных белоксодержащих антигенов на ключевые эффекторы врожденного иммунитета, от активации которого зависит интенсивность развития адаптивного иммунного ответа, исследовали их влияние на фагоцитарную активность гранулоцитов мышей, экспрессию Толл-подобных рецепторов (TLRs) и изменение иммунофенотипа лимфоцитов мышей через 7 дней после двукратной иммунизации дозой белка на мыш 50 мкг (для В/Э и Ф/Р) и 25 мкг (для С/Н).

Изучение влияния на фагоцитарную активность показало, что все исследованные препараты приводили к увеличению содержания фагоцитирующих клеток по сравнению с контролем. При этом максимальное увеличение числа фагоцитирующих клеток (%) наблюдалось в группе мышей, иммунизированных фракцией 30–100 kDa и супернатантом (табл. 2).

Изучение содержания клеток, экспрессирующих Толл-подобные рецепторы (TLRs), показало, что у мышей все исследованные препараты повышали численность TLR2 и TLR4 позитивных клеток в крови по сравнению с контролем (табл. 3). Число

Таблица 1. Протективная активность белоксодержащих препаратов, выделенных из *S. pneumoniae* 6В № 296, после иммунизации мышей линии BALB/c и последующего заражения дозой 10^4 м.к. штаммов *S. pneumoniae* гомологичного (6В № 1121) и гетерологичного (3 № 3) серотипов

Table 1. The protective activity of protein-containing preparations isolated from *S. pneumoniae* 6B No. 296 after immunization with BALB/c mice and subsequent infection with a dose of 10^4 m.c. strains of *S. pneumoniae* homologous (6B No. 1121) and heterologous (3 No. 3) serotypes

№ опыта No experience	Иммунизирующий препарат Preparation for immunization		Заражение: серотип, штамм Infection: serotype, strain	Гибель мышей на сутки: The death of mice per day:								Выжило / всего заражено Survived / total infected
	Наименование Name	Доза, мкг белка Dose, mcg protein		1	2	3	4	5	6	7	8	
1	Водный экстракт Water extract	50	6В, № 1121				1	1	2	3		2/9
	Фракция 30–100 kDa Fraction 30–100 kDa							2	2	1		4/9 *
	Супернатант Supernatant	100			2	1	2	1	2	1		0/9
	Контроль Control	–					2	3	3		1	0/9 *
2	Водный экстракт Water extract	50	3, №3		2	7						1/10
	Фракция 30–100 kDa Fraction 30–100 kDa				4							6/10 **
	Супернатант Supernatant	25			1	6						3/10 ***
	Контроль Control	–			5	5						0/10 ***

Примечание: Достоверность различий между опытом и контролем: по динамике выживаемости мышей * $Z = 2,01$, $p < 0,05$ при критическом значении $> 1,92$; *** $Z = 2,28$, $p < 0,05$ при критическом значении $\geq 2,086$ (при 20 мышках в опыте); по критерию согласия ** $\chi^2 = 5,95$, $p < 0,02$.
Note: Significance of differences between experiment and control: on the dynamics of mouse survival * $Z = 2,01$, $p < 0,05$ at a critical value $\geq 1,92$; *** $Z = 2,28$, $p < 0,05$ at a critical value $\geq 2,086$ (with 20 mice in the experiment); according to the criterion of consent ** $\chi^2 = 5,95$, $p < 0,02$.

Таблица 2. Влияние экспериментальных белоксодержащих пневмококковых препаратов на фагоцитарную активность гранулоцитов у мышей (через 7 дней после двукратной иммунизации)

Table 2. The effect of experimental protein-containing pneumococcal preparations on the phagocytic activity of granulocytes in mice (7 days after double immunization)

Количество фагоцитирующих клеток (%), M ± SD, Me (Q1–Q3) The number of phagocytic cells (%), M ± SD, Me (Q1–Q3)			
Контроль (не иммунизированные) Control (not immunized)	Водный экстракт ^{''} Water extract ^{''}	Фракция 30–100 kDa ^{'''} Fraction 30–100 kDa ^{'''}	Супернатант ^{''''} Supernatant ^{''''}
75,98 ± 2,23 76,1(74–77,7)	82,92 ± 2,53 82,5(81–85) ^{''''}	93,12 ± 2,17 93,8(92,2–94,5) ^{''''}	91,06 ± 1,76 91,3(90–92,1) ^{''''}

Примечание: ^{''''} ^{''''} ^{''''} достоверность различий между исследуемыми группами, p < 0,05 (Mann-Whitney U-test).
Note: ^{''''} ^{''''} ^{''''} significance of differences between the study groups, p < 0.05 (Mann-Whitney U-test).

Таблица 3. Влияние экспериментальных белоксодержащих пневмококковых препаратов на содержание TLRs-экспрессирующих гранулоцитов мышей (через 7 дней после двукратной иммунизации)

Table 3. The effect of experimental protein-containing pneumococcal preparations on the number of TLRs-expressing granulocytes of mice (7 days after double immunization)

TLRs	Количество клеток (%), M ± SD, Me(Q1–Q3) The number of cells (%), M ± SD, Me (Q1–Q3)			
	Контроль (не иммунизированные) Control (not immunized)	Водный экстракт ^{''} Water extract ^{''}	Фракция 30–100 kDa ^{'''} Fraction 30–100 kDa ^{'''}	Супернатант ^{''''} Supernatant ^{''''}
TLR2	45,54 ± 3,28 45,7(43,5–48)	55,88 ± 4,99 55,3(52–60,4) ^{''''}	67,66 ± 4,32 68,3(64,2–71,5) ^{''''}	62,86 ± 4,03 62,7(59,6–66,7) ^{''''}
TRL4	26,72 ± 2,51 27,8(25–28)	48,8 ± 3,98 48(46–52,8) ^{''''}	60,24 ± 2,85 60,7(59,1–62) ^{''''}	52,24 ± 3,45 52,2(49,4–55) ^{''''}

Примечание: ^{''''} ^{''''} ^{''''} достоверность различий между исследуемыми группами, p < 0,05 (Mann-Whitney U-test).
Note: ^{''''} ^{''''} ^{''''} significance of differences between the study groups, p < 0.05 (Mann-Whitney U-test).

TLR2-экспрессирующих клеток было выше при иммунизации фракцией 30–100 kDa по сравнению с водным экстрактом. При иммунизации фракцией 30–100 kDa количество TLR4-экспрессирующих клеток было выше по сравнению с бактериальным экстрактом и супернатантом.

Изучение иммунофенотипа лимфоцитов мышей выявило, что все изучаемые препараты вызывали повышение количества цитотоксических лимфоцитов – CD8a+/CD3+, Т-хелперов – CD45+/CD4+, регуляторных клеток – CD4+/CD25+/Foxp3+, натуральных киллеров (NK) – CD16/32+CD3+, натуральных Т-киллеров (NKT) – CD16/32+/CD3+, В2-лимфоцитов – CD45+/CD19+ (особенно, под действием С/Н), В1-лимфоцитов – CD5+ (при снижении под действием С/Н), клеток, экспонирующих молекулы главного комплекса гистосовместимости класса II, за исключением количества общих Т-лимфоцитов CD45+/CD3+ (табл. 4).

Различия между препаратами выявлены в содержании В-лимфоцитов. Так, супернатант в большей степени, чем водный экстракт и фракция 30–100 kDa, способствовал повышению количества В2-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы CD45+/CD19+, и в меньшей степени по сравнению с водным экстрактом

и фракцией 30-100 kDa – В1-лимфоцитов с маркером CD5+.

Выводы

1. Из изученных препаратов (исходный водный экстракт, фракция 30–100 kDa, супернатант), полученных из вакцинного штамма *S. pneumoniae* 6В № 296, наибольшая протективная активность в отношении штамма как вирулентного гомологичного (6В № 1121), так и гетерологичного (3 № 3) серотипов отмечена для ФР. Протективная активность в отношении штамма гетерологичного серотипа также выявлена у С/Н.
2. Оценка влияния изученных препаратов на эф- фекторы врожденного иммунитета показала существенное повышение количества клеток, экспрессирующих TLR4 при воздействии ФР, и TLR2 – при действии ФР и С/Н. Также было выявлено увеличение фагоцитарной активности гранулоцитов мышей под влиянием данных экспериментальных препаратов. Кроме того, под действием С/Н отмечено более значительное снижение численности В1 лимфоцитов на фоне повышения числа В2-лимфоцитов.
3. В результате проведенных исследований показано, что белоксодержащая фракция с ММ 30–100 kDa является наиболее активным стимулятором

Таблица 4. Влияние экспериментальных белоксодержащих пневмококковых препаратов на иммунофенотип лимфоцитов мышей (через 7 дней после двукратной иммунизации)**Table 4. The effect of experimental protein-containing pneumococcal drugs on the immunophenotype of mouse lymphocytes (7 days after double immunization)**

Лимфоциты Lymphocytes	Количество клеток (%), M ± SD, Me(Q1–Q3) The number of cells (%), M ± SD, Me (Q1–Q3)			
	Контроль (не иммунизированные) Control (not immunized)	Водный экстракт Water extract	Фракция 30–100 kDa Fraction 30–100 kDa	Супернатант Supernatant
CD45+/CD3+	66,08 ± 1,84 65,1(65–67,8)	68,68 ± 2,32 68,4(68–70,5)	67,94 ± 2,37 67,9(67,8–69,3)	66,1 ± 3,56 65,5(63,5–69,4)
CD8a+/CD3+	10,72 ± 1,71 11,5(9,2–11,8)	16,9 ± 3' 16,6(14,2–19,5)	17,04 ± 2,95' 16,6(14,8–19,6)	15,58 ± 2,65' 14,2(13,8–17,3)
CD45+/CD4+	39,88 ± 2,16 40,5(38–41,2)	54,92 ± 2,33' 54,1(53,2–56,7)	48,74 ± 3,8' 48,9(45–52)	44,46 ± 2,77' 44,1(42,2–46,5)
CD45+/CD25+	2,98 ± 0,76 3(2,5–3,2)	7,16 ± 0,59' 7(6,8–7,5)	6,7 ± 1,3' 6(5,9–7,5)	5,8 ± 1,06' 5,7(4,9–6,2)
CD4+/CD25+/Foxp3+	2,36 ± 0,2 2,4(2,2–2,5)	4,92 ± 0,3' 4,9(4,8–5,1)	4,96 ± 0,33' 4,9(4,7–5,2)	3,88 ± 0,39' 3,8(3,6–4)
CD16/32+CD3+ (NK)	5,88 ± 1,0 6,1(5,4–6,2)	11,18 ± 1,77' 11,8(10,2–12,3)	13,84 ± 1,96' 13,8(12,5–15,3)	13,42 ± 1,67' 13,4(12,2–14,6)
CD16/32+/CD3- (NK-T)	0,35 ± 0,16 0,4(0,3–0,45)	1,11 ± 0,26' 1,1(0,9–1,2)	1,08 ± 0,2' 1,1(0,9–1,27)	1,08 ± 0,23' 1,1(0,9–1,2)
CD45+/CD19+	18,26 ± 1,42 18,5(17,3–19,1)	24,58 ± 1,42' 24,2(23,9–25,6)	27,12 ± 1,39' 26,5(26,5–27,6)	29,43 ± 1,29' "" 29,5(28,3–30,3)
CD5+	62,86 ± 1,82 62,7(61,8–64,3)	69,76 ± 1,1' "" 70(69–70,5)	70,36 ± 1,45' "" 70,4(69,7–71,4)	60,14 ± 1,56' "" 60,5(59,2–61)
CD45+/MHC II+	17,6 ± 0,62 17,5(17,3–18)	28,3 ± 1,7' 28,9(27,7–29)	26,52 ± 2,46' 27,6(25–28)	27,9 ± 1,35' 27,3(27–28,5)

Примечание: "" "" достоверность различий между исследуемыми группами, $p < 0,05$ (Mann-Whitney U-test).Note: ' ' "" significance of differences between the study groups, $p < 0.05$ (Mann-Whitney U-test).

врожденного и адаптивного иммунитета по сравнению с исходным препаратом водного экстракта, из которого она получена, и супернатантом,

что требует дальнейшего изучения для определения возможности использования при разработке серотипнезависимой пневмококковой вакцины.

Литература

1. Маянский Н. А., Савинова Т. А., Алябьева О. А. и др. Антибиотикорезистентность и клональная эволюция *Streptococcus pneumoniae* серотипа 19A в России, 2003–2013 гг. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017. Т. 19, № 2. С. 145–151.
2. Hicks L, Harison L, Flannery B, et al. Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) serotypes in the United States during the era of widespread PCV7 vaccination. 1998–2004. // The Journal of Infectious Diseases. 2007. Vol. 196, P. 1346–1354.
3. Kim L, McGee L, Tomczyk S, et al. Biological and Epidemiological Features of Antibiotic-Resistant *Streptococcus pneumoniae* in Pre- and Post-Conjugate Vaccine Eras: a United States Perspective // Clinical Microbiology Reviews. 2016. Vol. 29, N 3. P. 525–552.
4. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы». // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2020. Т. 10, № 1. С. 111–112.
5. Darrieux M, Goulart C, Briles D, et al. Current status and perspectives on protein-based pneumococcal vaccines. // Critical Reviews in Microbiology. 2015. Vol. 41, N. 2. P. 190–200.
6. Pichichero M. Pneumococcal whole-cell and protein-based vaccines: Changing the paradigm. // Expert Review of Vaccines. 2017; Vol. 16, N 12. P. 118–1190.
7. Principi N, Esposito S. Development of pneumococcal vaccines over the last 10 years // Expert Opinion on Biological Therapy. 2018. Vol. 18, N 1. P. 7–17.
8. Курбатова Е. А., Воробьев Д. С., Егорова Н. Б. и др. Штаммовые различия внутривидовой иммуногенной активности антигенных компонентов *Streptococcus pneumoniae*. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2013. № 5. С. 60–69.
9. Грищенко Н. В., Токарская М. М., Калина Н. Г. и др. Влияние состава питательной среды на продукцию капсульного полисахарида *S. pneumoniae* типа 19A // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2012. № 2. С. 12–17.
10. Гланц С. А. Медико-биологическая статистика. М.: Издательство «Практика»; 1999.

References

1. Mayansky NA, Savinova TA, Alyabyeva NM, et al. Antimicrobial resistance and clonal evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in Russia during 2002–2013. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2017;19(2):145–51 (In Russ.).
2. Hicks L, Harison L, Flannery B, et al. Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) serotypes in the United States during the era of widespread PCV7 vaccination. 1998–2004. *The Journal of Infectious Diseases*. 2007; 196(9):1346–1354. doi: 10.1086/521626.
3. Kim L, McGee L, Tomczyk S, et al. Biological and epidemiological features of antibiotic-resistant *streptococcus pneumoniae* in pre- and post-conjugate vaccine eras: a united states perspective. *Clinical Microbiology Reviews*. 2016; 29(3):525–552. doi:10.1128/CMR.00058-15.

- All-Russian Scientific-Practical Conference with International Participation «Current Immunization: challenges, opportunities, prospects». *Epidemiology and Infectious Diseases. Current items.* 2020; 10(1):111–112 (In Russ.). doi: 10.18565/epidem.2020.10.1.111-112.
- Darrieux M, Goulart C, Briles D, Leite LC. Current status and perspectives on protein-based pneumococcal vaccines. *Critical Reviews in Microbiology.* 2015; 41(2):190–200. doi: 10.3109/1040841X.2013.813902.
- Pichichero M. Pneumococcal whole-cell and protein –based vaccines: Changing the paradigm. *Expert Review of Vaccines.* 2017;6(12):1181–90. doi: 10.1080/14760584.2017.1393335.
- Principi N, Esposito S. Development of pneumococcal vaccines over the last 10 years. *Expert Opinion on Biological Therapy.* 2018; 18 (1):7–17. doi: 10.1080/14712598.2018.1384462.
- Kurbatova EA, Vorobiev DS, Egorova NB, et al. Strain difference of intra-species immunogenic activity of *Streptococcus pneumoniae* antigen components. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology (Moscow).* 2013;5:60–9 (In Russ.).
- Grischenko NV, Tokarskaya MM, Kalina NG, et al. Influence of nutrient medium composition on the production of capsule polysaccharide by *Streptococcus pneumoniae* 19A serotype. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology (Moscow).* 2012; 2: 12–7. (In Russ.).
- Glantz SA. *Primer of biostatistics.* 4th ed. Moscow: Praktika; 1999 (In Russ.).

Об авторах

- Ольга Максимовна Кукина** – мл. науч. сотр. лаборатории экспериментальной микробиологии НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. +7(495)-916-20-47, kukina1994@mail.ru. 0000-0003-0875-4141.
- Ирина Мироновна Грубер** – д. м. н., профессор, заведующая лабораторией экспериментальной микробиологии НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. +7(495)-916-20-47, igruber_instmech@mail.ru.
- Нэлли Кимовна Ахматова** – д. м. н., заведующая лабораторией механизмов регуляции иммунитета НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. +7(919)-7765570, anelly@mail.ru.
- Ольга Валерьевна Жигунова** – мл. науч. сотр. лаборатории экспериментальной микробиологии НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. +7(495)-916-20-47, kileva@mail.ru.
- Екатерина Алексеевна Курбатова** – д. м. н., профессор, заведующая лабораторией терапевтических вакцин НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. +7(495)-917-57-74, kurbatova6162@yandex.ru.
- Надежда Борисовна Егорова** – д. м. н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник лаборатории терапевтических вакцин НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. +7(903)5521473, vmegorova@mail.ru.
- Наталья Евгеньевна Ястребова** – д. м. н., профессор, заведующая лабораторией иммунохимической диагностики НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. +7(495)-917-07-41, yastreb03@rambler.ru.

Поступила: 15.04.2020. Принята к печати: 29.05.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- Olga M. Kukina** – junior researcher of the Laboratory of experimental microbiology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera. +7(495)-916-20-47, kukina1994@mail.ru. 0000-0003-0875-4141.
- Irina M. Gruber** – Dr. Sci (Med), Professor, Head of the Laboratory of experimental microbiology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, +7 (495)-916-20-47, igruber_instmech@mail.ru.
- Nelli K. Akhmatova** – Dr. Sci (Med), Head of the Laboratory of immunity regulation mechanisms, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera. +7 (919)-7765570, anelly@mail.ru.
- Olga V. Zhigunova** – junior researcher of the Laboratory of experimental microbiology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, +7(495)-916-20-47, kileva@mail.ru.
- Ekaterina A. Kurbatova** – Dr. Sci (Med), Professor, Head of the Laboratory of therapeutic vaccines, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera. +7(495)-917-57-74, kurbatova6162@yandex.ru.
- Nadezhda B. Egorova** – Dr. Sci (Med), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, leading researcher of Laboratory therapeutic vaccines, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera. +7(903) 5521473, vmegorova@mail.ru.
- Natalia E. Yastrebova** – Dr. Sci (Med), Professor, Head of the Laboratory of immunochemical diagnostics, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera. +7(495)-917-07-4, yastreb03@rambler.ru.

Received: 15.04.2020. Accepted: 29.05.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

ИНФОРМАЦИЯ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

Об эпидемиологической ситуации по инфекциям, передающимся клещами

Пресс-релиз от 29 июня 2020 г.

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека продолжает проведение оперативного мониторинга, в связи с началом активности клещей.

По еженедельным данным, в настоящее время обращаемость в медицинские организации пострадавших от присасывания клещей не превышает среднемноголетних значений. Зарегистрированы единичные случаи заболевания инфекциями, передаваемыми клещами.

В большинстве субъектов приступили к акарицидным обработкам, проведены обработки более 84 тыс. га территории.

На территории Южного и Северо-Кавказского федеральных округов проводятся акарицидные обработки крупного и мелкого рогатого скота.

С начала года привито от клещевого энцефалита более 1,65 млн человек, планируется привить более 3 млн человек.

В субъектах Российской Федерации обеспечена готовность лабораторий по исследованию клещей, исследовано более 129 тыс. клещей.

С участием специалистов Роспотребнадзора на федеральных и региональных телеканалах вышло 970 сюжетов, опубликовано свыше 2,9 тыс. информационных сообщений по предупреждению распространения инфекций, передающихся с укусами насекомых, издано более 365 тыс. памяток.

Ситуация остается на контроле Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Источник: <https://www.rospotrebnadzor.ru/>

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-28-32>

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *uge*, детектированного в штаммах *Klebsiella pneumoniae*

А. В. Устюжанин*, Г. Н. Чистякова, И. И. Ремизова

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

Резюме

Актуальность. Штаммы *Klebsiella pneumoniae* могут обладать различными генами факторов вирулентности и вызывать такие нозологические формы, как пневмония, инфекция мочевыводительной системы, абсцесс печени, неонатальный сепсис. **Цель работы** – провести филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *uge*, детектированного в штаммах *K. pneumoniae*.

Материалы и методы. Всего исследовано 66 бактериальных культур *K. pneumoniae*, идентифицированных в 2019 г. Из них 45 – выделены из проб фекалий, 20 – из проб цервикального канала, 1 – из зева. Видовую идентификацию выделенных микроорганизмов проводили бактериологическим методом, детекцию гена *uge* осуществляли с помощью ПЦР в реальном времени. **Результаты и обсуждение.** При проведении скринингового исследования *K. pneumoniae uge+* штаммы выявлены в 60,61%. Нуклеотидные последовательности являются гетерогенными, штаммы *K. pneumoniae*, проанализированные по нуклеотидной последовательности гена *uge*, имеют разное генетическое родство. Отсутствие кластеризации изолятов по времени выделения и принадлежности к стационару исключает наличие у них общих эпидемических связей. **Выводы.** Ген *uge* был детектирован в 60,6% штаммов *K. pneumoniae*, выделенных при проведении скринингового бактериологического исследования. Нуклеотидные последовательности гена *uge*, полученные в ходе настоящего исследования, отличаются от аналогичных, принадлежащих гипervирулентным штаммам, что может быть использовано для оценки патогенного потенциала выявляемых в стационарах изолятов и эпидемической ситуации в отделениях лечебного учреждения, а также разработки подходов к прогнозу уровня заболеваемости инфекций клебсиеллезной этиологии, основанных на методах молекулярной эпидемиологии.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, филогенетический анализ, ген *uge*

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Устюжанин А. В., Чистякова Г. Н., Ремизова И. И. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *uge*, детектированного в штаммах *Klebsiella pneumoniae*. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):28–32. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-28-32>.

Phylogenetic Analysis of the Nucleotide Sequences of the Uge Gene Detected in *Klebsiella pneumoniae* Strains

AV Ustyuzhanin, GN Chistyakova, II Remizova

Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care, Yekaterinburg

Abstract

Relevance. *Klebsiella pneumoniae* strains may have different virulence factor genes and cause nosological forms such as pneumonia, urinary tract infection, liver abscess, and neonatal sepsis. **The purpose** of this work is to conduct a phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of the *uge* gene detected in *K. pneumoniae* strains. **The purpose** of this work is to conduct a phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of the *uge* gene detected in *K. pneumoniae* strains. **Materials & Methods.** A total of 66 bacterial cultures identified in 2019 were examined. 45 bacterial cultures were isolated from fecal samples, 20 – from cervical canal samples, 1 – from the pharynx. **Results.** The *uge* gene was detected in 60.61% of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated during bacteriological screening. **Conclusions.** The *Klebsiella pneumoniae* nucleotide sequences of the *uge* gene obtained in the course of this study differ from the analogous ones belonging to hypervirulent strains, which can be used to assess the pathogenic potential of isolates detected in hospitals and the epidemic situation in medical departments, as well as to develop approaches to predict the incidence rate of *Klebsiella* etiology infections based on molecular epidemiology methods.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, phylogenetic analysis, *uge* gene

No conflict of interest to declare.

For citation: Ustyuzhanin AV, Chistyakova GN, Remizova II. Phylogenetic Analysis of the Nucleotide Sequences of the Uge Gene Detected in *Klebsiella pneumoniae* Strains. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):28–32. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-28-32>.

*Для переписки: Устюжанин Александр Владимирович, к. м. н., старший научный сотрудник научного отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики Уральского научно-исследовательского института охраны материнства и младенчества, г. Екатеринбург, ул. Репина 1. +79089249419, ust103@yandex.ru. © Устюжанин А. В. и др.

** For correspondence: Ustyuzhanin Alexander, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnosis of Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care. +79089249419, ust103@yandex.ru. ©Ustyuzhanin AV et al.

Введение

Klebsiella pneumoniae – типичный представитель семейства *Enterobacteriaceae*, который является распространенным возбудителем как внебольничных, так и внутрибольничных инфекций [1]. По литературным данным, обнаружение *Klebsiella pneumoniae* в клиническом материале может быть ассоциировано с такими нозологическими формами, как пневмония, инфекция мочевыводительной системы, абсцесс печени [2,3], неонатальный сепсис [4–6]. Указанный вид бактериальных клеток может обладать различными генами вирулентности и резистентности [7–10]. Одним из них является ген *ige*, обеспечивающий синтез фермента уридиндифосфат-галактуронат-4-эпимеразу. Он участвует в продукции липополисахарида и развитии эндотоксического шока при разрушении целостности клеточной стенки бактериальной клетки [11]. Детекция генетических маркеров лежит в основе молекулярно-эпидемиологического мониторинга, способствующего регистрации случаев заноса возбудителя инфекции во внутрибольничную среду, а также обнаружению хромосомных и внехромосомных изменений, свидетельствующих о процессе формирования госпитального штамма [12].

Изучение механизмов распространения штаммов и установление степени их генетического родства является актуальным направлением научных исследований для представителей различных врачебных специальностей: эпидемиологов, клиницистов, бактериологов [13]. Дополнительно к широко используемому в рутинной диагностической практике бактериологическому методу молекулярно-генетическое исследование особенностей выделенных изолятов позволяет дать более подробную характеристику бактериальных штаммов и провести внутривидовое типирование, что играет большую роль в оценке эпидемического процесса и установлении механизмов и путей распространения бактериальных изолятов. Значимым подходом к оценке микробного разнообразия является филогенетический анализ.

Цель исследования – провести филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *ige*, детектированного в штаммах *K. pneumoniae*.

Материалы и методы

Всего исследовано 66 бактериальных культур *K. pneumoniae*. Из них 45 – выделены из проб фекалий, 20 – из проб цервикального канала, 1 – из зева. Фекалии получены от новорожденных детей в возрасте от 3 до 123 суток, рожденных от матерей с различным сроком гестации (29–36 недель \pm 3 дня). Пробы цервикального канала взяты от 16 беременных (15–41 неделя гестации \pm 4 дня), одной роженицы (40 недель) и от трех женщин, обратившихся за консультативной помощью при планировании беременности. Пробы биологического материала были взяты

из акушеско-гинекологических и педиатрических отделений № 1–5 с февраля по ноябрь 2019 г.

Сбор фекалий в количестве 1 г осуществляли в стерильные лабораторные контейнеры для взятия проб с завинчивающейся крышкой и ложкой объемом 60 мл. Отделяемое цервикального канала забирали в пробирки с транспортной средой «Amies с углем» (Китай). Пробы биологического материала транспортировали и хранили в соответствии с нормативными документами. Микробиологическое исследование осуществляли согласно приказу № 535 от 22.04.1985 Минздрава СССР. Для культивирования бактерий посев материала выполняли на среду Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия г. Оболенск), кровяно-сыровоточный агар (основа-Conda, Испания; эритроциты барана, ЗАО «ЭКОлаб»; сыворотка крови крупного рогатого скота, ООО «БиолоТ», Россия), желточно-солевой агар (НИЦФ, Санкт-Петербург), Сабуро (BioMerieux, Франция). Пробы из цервикального канала дополнительно сеяли на питательную среду для выделения и культивирования лактобацилл (Лактобакагар, ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболенск).

Видовую идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с использованием бактериологического автоматического анализатора VITEK 2 compact (Bio Mérieux, Франция) согласно инструкции производителя.

ДНК бактериальных клеток *K. pneumoniae* выделяли из взвеси суточной культуры с использованием набора «Проба-экспресс» (ООО «Синтол», Москва) согласно инструкции производителя. Наличие гена *ige* определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием реагентов, праймеров 5'-TCTTCACGCSTTCTCACT-3' и 5'-GATCATCCGGTCTCCCTGTA-3' (ООО «Синтол», Москва). Детекцию ПЦР продуктов осуществляли в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I в режиме реального времени на амплификаторе IQ5 (Bio Rad, США). В состав реакционной смеси для амплификации входили: 2,5x ПЦР буферБ (KCl, TrisHCl (pH8.8), 6,25mM MgCl₂), SynTaq ДНК-полимераза, дезоксинуклеозидтрифосфаты, глицерол, Tween 20; 1 мкл 25mM MgCl₂, 7 мкл dd H₂O, по 1 мкл каждого праймера и 3,5 мкл образца ДНК. Режим амплификации представлен следующим образом: первоначальная денатурация проводилась при температуре 95 °C в течение 1 мин, затем следовало 30 циклов: денатурация при температуре 94 °C в течение 15 сек; отжиг праймеров при температуре 55 °C в течение 20 сек; элонгация – при температуре 72 °C в течение 30 сек.

Для оценки статистической значимости различий частоты встречаемости гена *ige* у штаммов *Klebsiella pneumoniae* использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса.

Молекулярное типирование последовательностей нуклеотидов проводили с помощью программы Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) методом сравнительного анализа полученных

Original Articles

нуклеотидных последовательностей с депонированными в международной базе генетической информации GenBank, выделенными другими авторами на территории Российской Федерации и других стран. Выравнивание нуклеотидных последовательностей, их филогенетический анализ и статистическую обработку полученных данных проводили в компьютерной программе Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA), v. 5.1 [14].

При построении филогенетических деревьев использовали алгоритм Neighbor-Joining («ближайшего соседа»). Проведенный молекулярно-генетический анализ включал нуклеотидные последовательности, депонированные в GenBank под номерами: KP645168, KP645169, KX954838, KX954843, KX954844, KX954845, KX954846, KX954848, CP030172, CP030877, KY751980, KP760052, KX954840, CP031789, KY403947, KP760056, CP034778, KX954839, CP026160, CP021740, CP030857, KY403949, KY403937, KY751977, KJ633804, KX954849, CP035210, AV924589, KY751976, KX954847, KP760057, KP760053, CP000647, KP760054, KP760055, KX954851, KX954850.

Эволюционные дистанции между последовательностями рассчитывали согласно двухпараметрической модели Kimura. Топологию филограммы оценивали на основании анализа 1000 псевдореplik. Различие между кластерами считали достоверными, если индекс поддержки в узлах был не менее 70.

Результаты и обсуждение

При проведении исследования 66 штаммов *K. pneumoniae* наличие гена *uge* было обнаружено в 40 бактериальных изолятах (*K. pneumoniae* (*uge*+)), что составило 60,6%. По данным литературы, частота обнаружения гена *uge* в штаммах *K. pneumoniae* регистрируется в диапазоне от 80% [11,15] до 90% [9,15,16], что выше, чем в настоящем исследовании. Такое отличие в частоте встречаемости гена может быть обусловлено разной характеристикой исследуемой выборки. В упомянутых выше исследованиях авторы указывают на то, что пробы были получены от пациентов с выраженной клинической симптоматикой, характерной для нозологических форм инфекционного генеза. Следовательно, у этиологически значимых штаммов, обладающих повышенным потенциалом вирулентности, частота встречаемости этого гена выше. В работе приведены результаты скрининговых исследований, проводимых среди пациентов в рамках микробиологического мониторинга с целью определения бактериальной структуры микроорганизмов, колонизирующих кишечник новорожденного, биоценоза влажной среды и выявления носителей. Следует отметить, что ген *uge* был выявлен в 27 из 45 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от новорожденных детей, что составляет 60%, и в 13 изолятах из 21, идентифицированных

в пробах от женщин (61,9%). В ходе проведенного исследования не было обнаружено отличий в частоте встречаемости *K. pneumoniae* (*uge*+) в штаммах, выделенных от новорожденных детей и от женщин ($p > 0,05$).

Гены *uge*, детектированные в 7 штаммах *K. pneumoniae*, выделенные от пациентов пяти различных отделений, были успешно секвенированы (обозначены на филогенетическом дереве как отделение № 1–5). Полученные нуклеотидные последовательности проанализированы с помощью программы BLAST. По результатам проведенного молекулярно-эволюционного анализа построено филогенетическое древо, отражающее степень генетического родства обозначенных штаммов по гену *uge*, обеспечивающему синтез фермента уридин-дифосфат-галактуронат-4-эпимеразы, участвующего в продукции липополисахарида клеточной стенки грамотрицательных бактерий (рис. 1). Изоляты бактериальных штаммов распределились по пяти генетическим группам – кластерам.

Первый кластер включил штаммы, выделенные от пациентов из отделения № 1 и № 4 в феврале 2019 г. и генетически близкие, идентифицированные в Китае в 2013 г. и Индии – в 2017 г.

Второй кластер объединил штамм от пациента из отделения № 2 с выделенными в Канаде (2019 г.), США (2015 г.), России (г. Оболенск, 2014 г., 2016 г.).

Третий кластер представлен изолятом, выделенным в отделении № 3 в августе 2019 года и генетически близкими штаммами, выделенными в Китае (2014 г.), США (2013 г.) и Индии (2017 г.).

Четвертый кластер состоял из изолятов, выделенных в апреле и марте 2019 г. (отделение № 3 и № 4), имеющих родство с детектированными в Тайланде (2012 г.), Тайване (2014 г.), США (2006 г.).

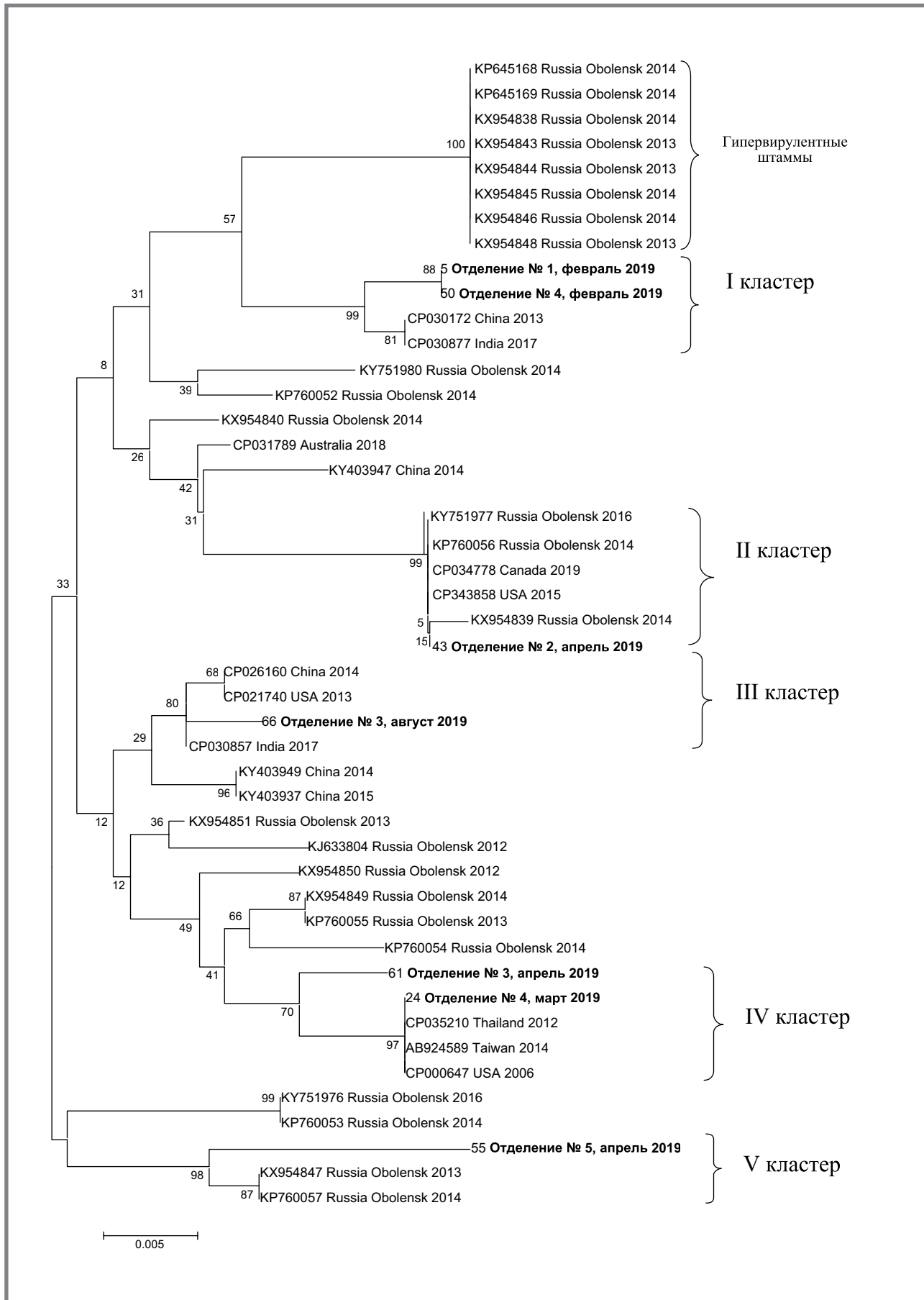
Пятый кластер представлен штаммом от пациента из отделения № 5 (апрель 2019 г.) генетически близким выделенным в России (г. Оболенск, 2013 г., 2014 г.).

Из представленных данных видно, что нуклеотидные последовательности анализируемого гена гетерогенны, что свидетельствует о генетическом разнообразии анализируемых штаммов *K. pneumoniae*. Отсутствие кластеризации изолятов по времени выделения и принадлежности к стационару исключает наличие у них общих эпидемических связей.

Следует также отметить, что ни один из выделенных в ходе настоящего исследования штаммов не вошел в кластер, объединяющий последовательности *K. pneumoniae*, относящихся к K-1 капсульному варианту и характеризующихся повышенной вирулентностью для мышей, что было показано в эксперименте, проведенном Лев А. Н. (2018 г.) [17].

Рисунок 1. Филогенетическое дерево штаммов *Klebsiella pneumoniae*, построенное на основе нуклеотидных последовательностей гена *uge*

Figure 1. Phylogenetic tree inferred based on nucleotide sequences the *uge* gene of *Klebsiella pneumoniae* strains



Заключение

Таким образом, проведенный филогенетический анализ позволил оценить внутривидовое разнообразие штаммов *K. pneumoniae* и сформулировать следующий вывод: нуклеотидные последовательности гена *ige*, полученные в ходе настоящего исследования, отличаются от аналогичных, принадлежащих

гипервирулентным штаммам, что может быть использовано для оценки патогенного потенциала выявляемых в стационарах изолятов и эпидемической ситуации в отделениях лечебного учреждения, а также для разработки подходов к прогнозу уровня заболеваемости инфекций клебсиеллезной этиологии, основанных на методах молекулярной эпидемиологии.

Литература

1. Козлова Н. С. Баранцевич Н. Е., Баранцевич Е. П. Чувствительность к антибиотикам штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в многопрофильном стационаре // Инфекция и иммунитет. - 2018. - № 1 (8). - С. 79–84. doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-79-84.
2. Schmiedeck SS, Napolitano PG, Estrada SM. Perinatal pyogenic liver abscess: a rare entity and first reported case of *Klebsiella pneumoniae*. *AJP Rep.* 2019;(3)6:251–255.
3. Guo Y, Wang S, Zhan L, et al. Microbiological and clinical characteristics of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* isolates associated with invasive infections in China. // *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;17:24. doi: 10.3389/fcimb.2017.00024. eCollection 2017.
4. Mukherjee S, Bhattacharjee A, Naha S, et al. –Molecular characterization of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST29, ST347, ST1224, and ST2558 causing sepsis in neonates in a tertiary care hospital of North-East India. *Infection, Genetics and Evolution.* 2019;69:166–175.
5. Datta S, Roy S, Chatterjee S, et al. A five-year experience of carbapenem resistance in enterobacteriaceae causing neonatal septicemia: predominance of NDM-1. *PLoS ONE.* 2014;9(11):e112101. doi:10.1371/journal.pone.0112101.
6. Cubero M, Marti S, Dominguez MA, et al. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* serotype K1 clinical isolates form robust biofilms at the air-liquid interface. *PLoS One.* 2019;18:14(9). doi: 10.1371/journal.pone.0222628. eCollection 2019.
7. Candan ED, Aksöz N. *Klebsiella pneumoniae*: characteristics of carbapenem resistance and virulence factors. *Acta Biochim.* 2015;62(4):867–874.
8. Datta S, Mitra S, Chattopadhyay P, et al. Spread and exchange of blaNDM-1 in hospitalized neonates: role of mobilizable genetic elements. *Eur. J. Clin. Microbiol Infect. Dis.* 2017;36:255–265.
9. Brisse S, Fevre C, Passet V, et al. Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PLoS One.* 2009;4(3):e4982. doi:10.1371/journal.pone.0004982.
10. Comandatore F, Sasser D, Bayliss SC, et al. Gene composition as a potential barrier to large recombinations in the bacterial pathogen *Klebsiella pneumoniae*. *Genome Biol Evol.* 2019. doi: 10.1093/gbe/evz236.
11. Vargas JM, Moreno Mochi MP, Nuñez JM, et al. Virulence factors and clinical patterns of multiple-clone hypermucoviscous KPC-2 producing *K. pneumoniae*. *Heliyon.* 2019. Jun 19;5(6):e01829.
12. Гончаров А. Е., Зуева Л. П., Колодзиева В. В. и др., Молекулярно-генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. // Федеральные клинические рекомендации. - 2014. - М. - 45 с.
13. Анганова Е. В., Духанова А. В., Савилов Е. Д. Бактерии рода *Klebsiella* в этиологической структуре бактериальных ОКИ: оценка их патогенности на уровне фено- и генотипа. // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. - 2011. - № 6 (61). - С. 62–65.
14. Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011;28(10):2731–2739.
15. Ikeda M, Mizoguchi M, Oshida Y, et al. Clinical and microbiological characteristics and occurrence of *Klebsiella pneumoniae* infection in Japan. *International Journal of General Medicine.* 2018;13(11):293–299. doi: 10.2147/IJGM.S166940.
16. Zhang S, Zhang X, Wu Q, et al. Clinical, microbiological, and molecular epidemiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae*-induced pyogenic liver abscess in southeastern China. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019;29(80):166. doi: 10.1186/s13756-019-0615-2. eCollection 2019.

References

1. Kozlova NS, Barantsevich NE, Barantsevich EP. Susceptibility to antibiotics in *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in a multidisciplinary medical centre. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2018;8(1):79–84. (In Russ.). <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-1-79-84>.
2. Schmiedeck SS, Napolitano PG, Estrada SM. Perinatal pyogenic liver abscess: a rare entity and first reported case of *Klebsiella pneumoniae*. *AJP Rep.* 2019;(3)6:251–255.
3. Guo Y, Wang S, Zhan L, et al. Microbiological and clinical characteristics of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* isolates associated with invasive infections in China. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;17:24. doi: 10.3389/fcimb.2017.00024. eCollection 2017.
4. Mukherjee S, Bhattacharjee A, Naha S, et al. –Molecular characterization of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST29, ST347, ST1224, and ST2558 causing sepsis in neonates in a tertiary care hospital of North-East India. *Infection, Genetics and Evolution.* 2019;69:166–175.
5. Datta S, Roy S, Chatterjee S, et al. A five-year experience of carbapenem resistance in Enterobacteriaceae causing neonatal septicemia: predominance of NDM-1. *PLoS ONE.* 2014;9(11):e112101. doi:10.1371/journal.pone.0112101.
6. Cubero M, Marti S, Dominguez MA, et al. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* serotype K1 clinical isolates form robust biofilms at the air-liquid interface. *PLoS One.* 2019;18:14(9). doi: 10.1371/journal.pone.0222628. eCollection 2019.
7. Candan ED, Aksöz N. *Klebsiella pneumoniae*: characteristics of carbapenem resistance and virulence factors. *Acta Biochim.* 2015;62(4):867–874.
8. Datta S, Mitra S, Chattopadhyay P, et al. Spread and exchange of blaNDM-1 in hospitalized neonates: role of mobilizable genetic elements. *Eur. J. Clin. Microbiol Infect. Dis.* 2017;36:255–265.
9. Brisse S, Fevre C, Passet V, et al. Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PLoS One.* 2009;4(3):e4982. doi:10.1371/journal.pone.0004982.
10. Comandatore F, Sasser D, Bayliss SC, et al. Gene composition as a potential barrier to large recombinations in the bacterial pathogen *Klebsiella pneumoniae*. *Genome Biol Evol.* 2019. doi: 10.1093/gbe/evz236.
11. Vargas JM, Moreno Mochi MP, Nuñez JM, et al. Virulence factors and clinical patterns of multiple-clone hypermucoviscous KPC-2 producing *K. pneumoniae*. *Heliyon.* 2019. Jun 19;5(6):e01829.
12. Гончаров А. Е., Зуева Л. П., Колодзиева В. В. и др., Молекулярно-генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. // Федеральные клинические рекомендации. - 2014. - М. - 45 с.
13. Анганова Е. В., Духанова А. В., Савилов Е. Д. Бактерии рода *Klebsiella* в этиологической структуре бактериальных острых кишечных инфекций и оценка их патогенности на уровне фенотипа и генотипа. // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2011;6(61):62–65. (In Russ.).
14. Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011;28(10):2731–2739.
15. Ikeda M, Mizoguchi M, Oshida Y, et al. Clinical and microbiological characteristics and occurrence of *Klebsiella pneumoniae* infection in Japan. *International Journal of General Medicine.* 2018;13(11):293–299. doi: 10.2147/IJGM.S166940.
16. Zhang S, Zhang X, Wu Q, et al. Clinical, microbiological, and molecular epidemiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae*-induced pyogenic liver abscess in southeastern China. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019;29(80):166. doi: 10.1186/s13756-019-0615-2. eCollection 2019.

Об авторах

- **Александр Владимирович Устюжанин** – к. м. н., старший научный сотрудник научного отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики Уральского научно-исследовательского института охраны материнства и младенчества, г. Екатеринбург, ул. Репина, 1. +79089249419, ust103@yandex.ru. ORCID 0000-0001-8521-7652.
- **Гузель Нуховна Чистякова** – д. м. н., профессор, руководитель научного отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики Уральского научно-исследовательского института охраны материнства и младенчества, г. Екатеринбург, ул. Репина, 1. chistyakovagn@niomm.ru. ORCID 0000-0002-0852-6766.
- **Ирина Ивановна Ремизова** – к. б. н., старший научный сотрудник научного отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики Уральского научно-исследовательского института охраны материнства и младенчества. г. Екатеринбург, ул. Репина, 1. Remizovall@yandex.ru. ORCID 0000-0002-4238-4642.

Поступила: 27.02.2020. Принята к печати: 08.06.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Alexander V. Ustyuzhanin** – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnosics of Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care. +79089249419, ust103@yandex.ru. ORCID 0000-0001-8521-7652.
- **Guzel N. Chistyakova** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnosics of Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care. chistyakovagn@niomm.ru. ORCID 0000-0002-0852-6766.
- **Irina I. Remizova** – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher of the Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnosics of Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care. Remizovall@yandex.ru, ORCID 0000-0002-4238-4642.

Received: 27.02.2020. Accepted: 08.06.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-33-40>

Клинико-эпидемиологическая характеристика гепатоцеллюлярной карциномы в Республике Саха (Якутия)

С. С. Слепцова¹, С. И. Малов^{*2,3}, Е. Д. Савилов^{3,4}, С. И. Семенов¹, В. К. Семенова¹, Л. А. Степаненко², О. Б. Огарков^{3,4}, И. В. Малов²

¹ Медицинский институт ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М. К. Аммосова» Минобрнауки России, г. Якутск

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иркутск

³ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, г. Иркутск

⁴ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск

Резюме

Актуальность. В 2016 г. на 69-й Всемирной ассамблее здравоохранения была принята резолюция по элиминации парентеральных гепатитов в мире к 2030 г. В Республике Саха (Якутия), как и в целом в Российской Федерации, необходимо определить стартовые позиции по распространенности и заболеваемости гепатитами В, С и D как ведущих факторов развития гепатоцеллюлярной карциномы. **Цель работы:** дать клинико-эпидемиологическую характеристику гепатоцеллюлярной карциномы в Республике Саха (Якутия) на начальном этапе реализации программы элиминации вирусных гепатитов для последующего анализа ее эффективности. **Материалы и методы.** Проведен клинико-эпидемиологический анализ заболеваемости, смертности, кумулятивной выживаемости при гепатоцеллюлярной карциноме в Республике Саха (Якутия) за 10-летний период (2009–2018 гг.). Предикторы развития гепатоцеллюлярной карциномы анализировались по материалам первичной медицинской документации и результатам анкетирования 125 больных. **Результаты и обсуждение.** Уровень заболеваемости гепатоцеллюлярной карциномой в Республике Саха (Якутия) на протяжении последних 10 лет в 2,0–3,9 раза превышает соответствующий показатель в Российской Федерации. Наиболее высокая смертность от изучаемой патологии отмечается в Центральной и Заполярной зонах республики. По материалам ракового регистра медиана кумулятивной выживаемости больных карциномой составила 13,7 месяца с момента постановки диагноза, что значительно выше, чем десять лет назад. Установлены основные факторы риска, среди которых ведущую роль играет инфицирование вирусами гепатитов С, В и D. Кроме этого, имеет значение злоупотребление алкоголем, сахарный диабет, избыточный вес тела, табакокурение. **Выводы.** Республика Саха (Якутия) является гиперэндемичным регионом Российской Федерации по уровню заболеваемости гепатоцеллюлярной карциномой с преобладанием в ее структуре мужского населения. Темпы снижения заболеваемости раком печени в республике будет зависеть от эффективности региональной программы элиминации вирусных гепатитов и снижения заболеваемости циррозом печени неинфекционной этиологии.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома, факторы риска, гепатит С, гепатит В, гепатит D, генотипы вируса
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Слепцова С. С., Малов С. И., Савилов Е. Д. и др. Клинико-эпидемиологическая характеристика гепатоцеллюлярной карциномы в республике Саха (Якутия). Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):33–40. [https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-33-40](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-33-40).

Clinical and Epidemiological Characteristics of Hepatocellular Carcinoma in the Republic of Saha (Yakutia)

SS Sleptsova¹, SI Malov^{*2,3}, ED Savilov^{3,4}, SI Semenov¹, VK Semenova¹, LA Stepanenko², OB Ogarkov^{3,4}, IV Malov²

¹ Medical Institute of the North-Eastern Federal University in Yakutsk, Russia

² Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

³ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Irkutsk, Russia

⁴ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

* Для переписки: Малов Сергей Игоревич, к. м. н., доцент кафедры инфекционных болезней Иркутского государственного медицинского университета, 664003, г. Иркутск, ул. Красного восстания, 1. +73952243825, LYNX2000@mail.ru. ©Слепцова С. С. и др.

** For correspondence: Malov Sergey, Cand. Sci. (Med.), associate professor of the Department of Infectious Diseases, Irkutsk State Medical University, 1 bld. Krasnogo vosstaniya, Irkutsk, 664003, Russia +73952243825, LYNX2000@mail.ru ©Sleptsova SS et al.

Abstract

Relevance. In 2016, a resolution was adopted at the 69th World Health Assembly, the goal of which is to eliminate parenteral hepatitis in the world by 2030. In the Republic of Sakha (Yakutia), as in the Russian Federation as a whole, it is necessary to determine the starting positions for the prevalence and incidence of hepatitis B, C, and D, as the leading factors in the development of hepatocellular carcinoma.

Aim: to give a clinical and epidemiological characterization of hepatocellular carcinoma in the Republic of Sakha (Yakutia) at the initial stage of the program for the elimination of viral hepatitis for subsequent analysis of its effectiveness. **Materials & Methods.** A clinical and epidemiological analysis of morbidity, mortality, cumulative survival in hepatocellular carcinoma in the Republic of Sakha (Yakutia) over a 10-year period (2009–2018) was carried out. Predictors for the development of hepatocellular carcinoma were analyzed based on primary medical records and a survey of 125 patients. **Results and discussion.** The incidence rate of hepatocellular carcinoma in the Republic of Sakha (Yakutia) over the past 10 years is 2.0–3.9 times higher than the corresponding indicator in the Russian Federation. The highest mortality from the studied pathology is noted in the Central and Polar zones of the republic. According to the materials of the cancer registry, the median cumulative survival of patients with carcinoma was 13.7 months from the date of diagnosis, which is significantly higher than ten years ago. The main risk factors have been identified, among which the leading role is played by infection with hepatitis C, B, and D. viruses. Also, alcohol abuse, diabetes mellitus, overweight, and smoking are important.

Conclusion. The Republic of Sakha (Yakutia) is a hyperendemic region of the Russian Federation in terms of the incidence of hepatocellular carcinoma with a predominance of the male population in its structure. The rate of decrease in the incidence of liver cancer in the country will depend on the effectiveness of the regional program for the elimination of viral hepatitis and the decrease in the incidence of cirrhosis of the liver of non-infectious etiology.

Keywords: hepatocellular carcinoma, risk factors, hepatitis C, hepatitis B, hepatitis D, virus genotypes
No conflict of interest to declare.

For citation: Sleptsova SS, Malov SI Savilov ED, et al. Clinical and Epidemiological Characteristics of Hepatocellular Carcinoma in the Republic of Saha (Yakutia). *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):33–40. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-33-40>.

Введение

В 2016 г. Европейское региональное бюро ВОЗ с участием представителей Российской Федерации утвердило план действий сектора здравоохранения по борьбе с вирусными гепатитами [1]. В соответствии с принятыми целевыми показателями к 2020 г. должны быть выявлены 50% от общего числа больных хроническими гепатитами В (ХГВ), С (ХГС) и D (ХГД), а также 75% больных с циррозом печени (ЦП) и гепатоцеллюлярной карциномой; 75% пациентов ХГС должны пройти курс противовирусной терапии и не менее 90% из них должны полностью излечиться [1].

Наиболее неблагоприятным исходом вирусных гепатитов является гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК), от которой в мире, согласно экспертной оценке, ежегодно погибает более 1,3 млн человек [2–4].

Одной из характерных особенностей ГЦК является преобладание среди заболевших лиц мужского пола [5]. Наиболее высокие стандартизованные показатели заболеваемости ГЦК среди мужчин выявлены в Южной и Северной Корее (47,10/0000), Таиланде (38,60/0000), Китае (37,90/0000) [6]. В России наиболее высокий уровень заболеваемости мужского населения (стандартизованный показатель) зарегистрирован в Республиках Саха (Якутия) – 18,60/0000, Чечня (14,2 0/0000), Калмыкия (13,30/0000) и Сахалинской области (11,80/0000) [2].

Несмотря на успехи в противовирусном лечении ХГВ и ХГС заболеваемость злокачественными новообразованиями печени и желчных путей в России

к началу реализации программы элиминации вирусных гепатитов увеличилась с 4,560/0000 (2011 г.) до 5,520/0000 (2015 г.), а показатель смертности вырос с 5,980/0000 до 6,770/0000 [1].

Анализ существующей литературы позволяет сделать вывод, что Республика Саха (Якутия) (далее – РС (Я)) относится к числу субъектов Российской Федерации со стабильно высоким уровнем заболеваемости ГЦК. Распространенность среди населения этой республики вирусных гепатитов, которые являются основными провоцирующими факторами канцерогенеза в печени, также не имеет тенденции к снижению. По состоянию на 2018 г. в РС (Я) показатель заболеваемости ХГВ составил 27,500/0000, а ХГС – 39,850/0000, что значительно выше среднероссийских показателей [7,8]. Вместе с тем, находясь в начале пути элиминации вирусных гепатитов в РС (Я), как и в целом в Российской Федерации, необходимо определить стартовые позиции на основании стандартизованных показателей распространенности, заболеваемости и смертности от ГЦК. Это позволит к плановому сроку элиминации вирусных гепатитов В и С в мире к 2030 году сравнить эффективность проводимых в республике лечебно-диагностических мероприятий и их влияние на снижение заболеваемости ГЦК.

Цель работы – дать клинико-эпидемиологическую характеристику гепатоцеллюлярной карциномы в Республике Саха (Якутия).

Материалы и методы

В работе использованы материалы официальной статистики Территориального управления

Роспотребнадзора РС (Я) и формы федерального статистического наблюдения. Для оценки уровней и динамики заболеваемости и распространенности злокачественных новообразований печени и внутрипеченочных желчных протоков проводился анализ форм статистического наблюдения № 7 «Сведения о заболеваниях злокачественными новообразованиями», № 35 «Сведения о больных со злокачественными новообразованиями» по обобщенному коду МКБ-10 «Злокачественные новообразования печени и внутрипеченочных желчных протоков» (C22) и «Печеночноклеточный рак» (C22.0). Исследовалась динамика заболеваемости и распространенности ЦП и злокачественных новообразований печени и внутрипеченочных желчных протоков, а также смертности от них.

Клинико-лабораторная характеристика вирусных гепатитов и структура генотипов вирусов у больных ГЦК изучалась по данным отделения вирусных гепатитов ГБУ РС (Я) «Якутская городская клиническая больница» и Якутского республиканского онкологического диспансера. Предикторы развития ГЦК анализировались по результатам анкетирования 125 больных ГЦК и анализу их медицинской документации. Контрольную группу составили 354 больных хроническими вирусными гепатитами (ХВГ) в стадии ЦП без ГЦК. Клинико-лабораторную диагностику ХВГ осуществляли, опираясь на рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитами В и С [9]. Протокол опроса выполнялся в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации [10]. Степень алкогольной зависимости оценивали, используя шкалу Audit [11].

Статистическая обработка материалов проводилась с использованием пакета программ Statistica (версия 13). При статистической обработке результатов исследования рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение исследуемых показателей в группах. Для определения статистической значимости различий средних величин использовался t-критерий Стьюдента. Для сравнения количественных показателей в сравниваемых группах использовался также непараметрический критерий χ^2 -квадрат. Различия показателей считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

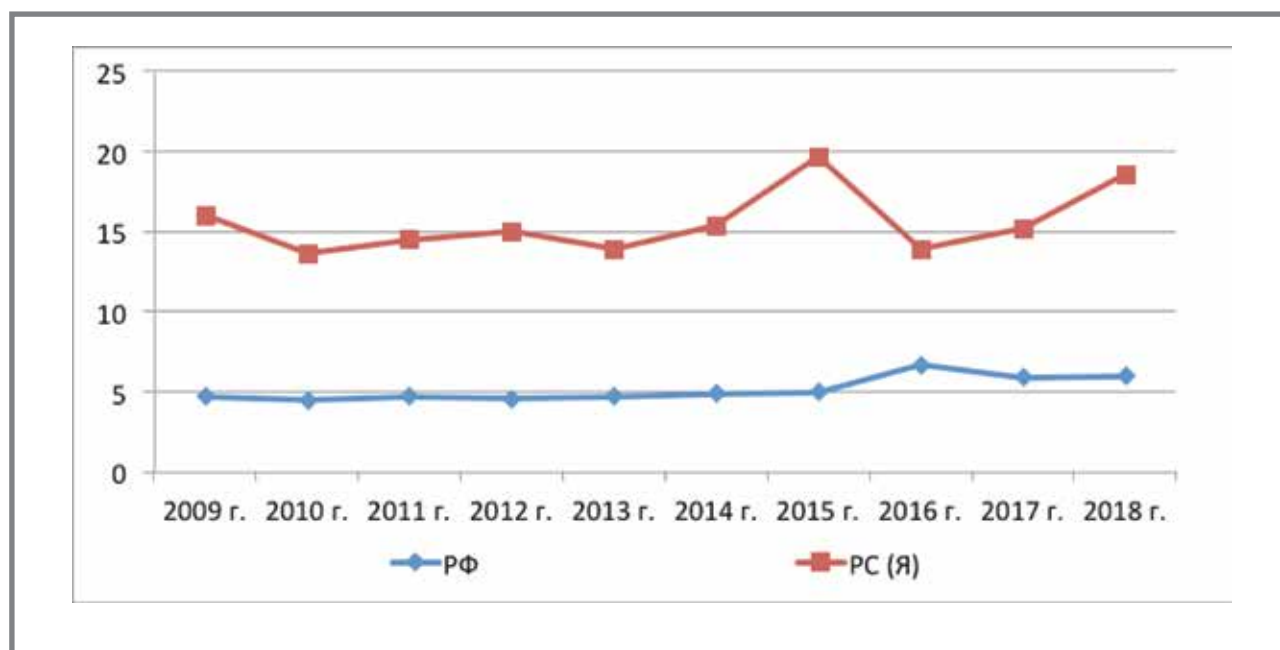
При сопоставлении ежегодных показателей заболеваемости ГЦК в РС (Я) и Российской Федерации за 10-летний период (2009–2018 гг.) было выявлено их стабильное превышение в изучаемом субъекте в диапазоне от 2,0 до 3,9 раза (рис. 1). Всего за этот период в РС (Я) было зарегистрировано 1658 случаев заболевания первичным раком печени, при этом лиц мужского пола было 944 (56,9%), женского – 714 (43,1%). Соотношение лиц мужского и женского пола составило 1,7:1,0.

За эти же годы отмечено увеличение доли больных, выявленных на ранней стадии заболевания (I–II по классификации TNM), с 8,3% (2009 г.) до 27,3% (2018 г.).

По этническому признаку ГЦК одинаково часто регистрировали как у коренных жителей, так и среди некоренного населения республики (50,7% и 49,3% соответственно). Среди коренных жителей РС (Я) ГЦК выявляли чаще среди населения Центральной и Заполярной зон республики (39,7% и 48,3%

Рисунок 1. Заболеваемость первичным раком печени в РС (Я) и РФ с 2009 г. по 2018 г.

Figure 1. The incidence of primary liver cancer in the Republic of Sakha (Yakutia) and the Russian Federation from 2009 to 2018 (according to official registration per 100 ths people)



Original Articles

соответственно), что, возможно, связано с недостаточным охватом сельского населения квалифицированной медицинской помощью, и как следствие этого, низким процентом прижизненной диагностики.

Для показателей смертности вследствие ЦП и ГЦК отмечена аналогичная с показателем заболеваемости тенденция, как по ее многолетнему движению, так и по территориальному распределению. За изучаемый период показатель смертности в целом по РС (Я) вырос с 2,3 до 4,5 на 100 тыс. контингента. Наиболее высокая смертность от изучаемой патологии отмечается в Центральной ($31,4 \pm 2,6$ на 100 тыс. населения) и Заполярной ($30,1 \pm 2,5$ на 100 тыс. населения) зонах РС (Я), она значимо выше среднего стандартизованного показателя по России ($3,66 \pm 0,04$ на 100 тыс. населения) ($p < 0,05$). По материалам ракового регистра РС (Я), медиана кумулятивной выживаемости больных ГЦК составила 13,7 месяца с момента постановки диагноза, что значительно выше, чем десять лет назад (3,3 месяца). Трехлетняя выживаемость при ГЦК на фоне ЦП класса А (по Чайлд-Пью) составляла 71%, класса В – 41%, класса С – 25%.

При оценке факторов риска инфицирования вирусами парентеральных гепатитов установлено, что наличие в анамнезе операций, гемотрансфузий, стоматологических манипуляций, эндоскопического обследования в стационарах и поликлиниках отметили 52,6% заболевших. Развитие заболевания с внутрисемейным контактом связали 19,8% человек. У 3,4% пациентов в анамнезе выявлено наличие незащищенных половых контактов, что не исключало полового пути передачи.

В подавляющем большинстве наблюдений ГЦК развивался на фоне сформированного ЦП. При этом частота развития ГЦК на фоне ЦП была значительно выше у больных с продвинутой стадией цирроза (класс С по Чайлд-Пью). При оценке предполагаемого срока формирования ЦП и ГЦК у больных ХВГ выявлено, что чаще всего рак развивался в течение 10 лет и более при наличии ХГС и в срок до 10 лет – при ХГД.

Наиболее частой этиологической причиной развития ЦП и ГЦК в РС (Я) является ХГС, ХГВ и ХГД. Маркеры указанных ВГ в настоящем исследовании выявлены у 100% больных с ГЦК. В развивающихся странах на долю инфекционных агентов приходится 80–90% всех случаев ГЦК, а в странах с высоким уровнем экономического развития – до 50–60% [12]. Предикторы, подвергнутые анализу в настоящем исследовании, приведены в таблице 1.

Известно, что после возникновения ЦП, связанного с ХГВ и ХГС, ГЦК развивается со скоростью от 1% до 8% в год [13]. По нашим данным, удельный вес сочетанных форм ХГВ и ХГС примерно одинаков при ЦП и ГЦК. Вместе с тем установлено, что инфицированность вирусом гепатита D значительно выше в группе ГЦК, чем ЦП. Это особенно важно в условиях отсутствия эффективных противовирусных препаратов для лечения ХГД.

Генотипирование вируса гепатита В у больных ГЦК показало, что в 67,5% случаев обнаруживался генотип D и у 32,5% больных – генотип А. При гепатите D первый генотип выявлен в 61,1% и второй генотип – в 38,9% случаев. У больных ГЦК, ассоциированной с вирусом гепатита С, в 100% случаев был идентифицирован генотип 1b.

Кроме вирусных агентов были оценены и некоторые другие факторы риска, такие как злоупотребление алкоголем, сахарный диабет 2 типа, избыточная масса тела, табакокурение. Частота выявления данных факторов существенно не отличалась в группе больных ГЦК и ЦП. В некоторых исследованиях показано, что в сравнении с популяцией здоровых лиц метаболические нарушения и вредные привычки чаще встречаются у больных ГЦК [14,15], но в свете полученных нами результатов следует все же полагать, что инфекционные факторы риска имеют первостепенное значение для развития фиброза печени, а формирование рака в цирротически измененной ткани носит вторичный характер. Вероятно, на фоне инфицирования вирусами парентеральных гепатитов описанные вредные привычки и метаболические нарушения могут являться дополнительными усугубляющими факторами риска, провоцирующими канцерогенез.

Среди лабораторных показателей в диагностике ГЦК существенное значение имеет уровень альфа-фетопротеина. У больных ГЦК уровень альфа-фетопротеина был значимо выше ($p = 0,000006$), чем у больных ЦП. Данный онкомаркер успешно используется в клинической практике для первичного выявления ГЦК, а также в прогнозировании рецидива заболевания после оперативного лечения и локальной деструкции опухоли [16].

Проведенный анализ клинической картины ГЦК позволил выделить некоторые обобщенные симптомы и синдромы у пациентов с этим заболеванием (табл. 2). Больные жаловались на постоянное вздутие живота, чувство быстрого наполнения желудка после приема малого количества пищи, тошноту, рвоту, снижение аппетита, неустойчивый стул с периодическим изменением цвета. При объективном осмотре более чем у половины больных ХВГ в стадии ГЦК отмечалась желтушность кожных покровов и склер. Внепеченочные проявления, множественные телеангиоэктазии на коже наблюдались преимущественно у больных с ХГД. Тяжесть течения рака печени достоверно определялась высокой частотой признаков портальной гипертензии, проявляющейся в виде желудочно-кишечных кровотечений и отечно-асцитического синдрома.

Заключение

В ходе проведенного исследования показано, что РС (Я) является гиперэндемичным регионом Российской Федерации по уровню заболеваемости ГЦК с преобладанием в ее структуре мужского населения как среди коренного, так и некоренного

Таблица 1. Предикторы развития ГЦК в РС (Я)
Table 1. Predictors of the development of HCC in the Republic of Sakha (Yakutia)

Показатель Index	ГЦК на фоне ХВГ (n = 125) HCC on the background of chronic hepatitis B (n = 125)	ХВГ в стадии ЦП без ГЦК (n = 354) Chronic hepatitis B in the stage of liver cirrhosis without HCC (n = 354)	P
Средний возраст (лет) Average age (years)	50,6 ± 12,1	61,7 ± 10,5	0,49
Соотношение Ж:М Value Women: Men	(46/79) 1:1,7	(168/186) 1:1,1	0,039
Острый гепатит в анамнезе, n (%) A history of acute hepatitis, n (%)	8 (6,4 ± 2,2)	59 (16,7 ± 2,0)	0,00058
Переливание крови в анамнезе, n (%) History of blood transfusion, n (%)	31 (24,8 ± 3,9)	44 (12,4 ± 1,8)	0,0041
Маркеры гепатита В, n (%) Markers of hepatitis B, n (%)	40 (32,0 ± 4,2)	152 (42,9 ± 2,6)	0,017
Маркеры гепатита С, n (%) Markers of hepatitis C, n (%)	41 (32,8 ± 4,2)	161 (45,5 ± 2,6)	0,0057
Ко-инфекция гепатита В + С, n (%) Co-infection of hepatitis B + C, n (%)	8 (6,4 ± 2,2)	15 (4,2 ± 1,1)	0,52
Маркеры гепатита D, n (%) Markers of hepatitis D, n (%)	36 (28,8 ± 4,1)	26 (7,3 ± 1,4)	0,000001
Цирроз печени: класс А по Чайлд-Пью, n (%) Cirrhosis: Class A of Child-Pugh, n (%)	35 (28,0 ± 4,0)	233 (65,8 ± 2,5)	0,000001
Цирроз печени: класс В по Чайлд-Пью, n (%) Cirrhosis: Class B of Child-Pugh, n (%)	30 (24,0 ± 3,8)	71 (20,1 ± 2,1)	0,37
Цирроз печени: класс С по Чайлд-Пью, n (%) Cirrhosis: Class C of Child-Pugh, n (%)	60 (48,0 ± 4,5)	50 (14,1 ± 1,9)	0,000001
Злоупотребление алкоголем (> 16 баллов по шкале Audit) n (%) Alcohol abuse (> 16 points on the Audit scale) n (%)	13 (10,4 ± 2,7)	56 (15,8 ± 1,9)	0,10
Сахарный диабет 2 типа, n (%) Type 2 diabetes mellitus, n (%)	9 (7,2 ± 2,3)	15 (4,2 ± 1,1)	0,24
Избыточный вес тела более 30 кг/м ² , n (%) Overweight more than 30 kg/m ² , n (%)	24 (19,2 ± 3,5)	59 (16,7 ± 2,0)	0,54
Табакокурение, n (%) Smoking, n (%)	39 (31,2 ± 4,1)	125 (35,3 ± 2,5)	0,39
Средний уровень альфа-фетопroteина (нг/мл) The average level of alpha-fetoprotein (ng/ml)	504,4 ± 102,0	35,1 ± 8,3	0,000006
Онкологический статус больных ГЦК Oncological status of patients with HCC			
Внепеченочные метастазы, n (%) Extrahepatic metastases, n (%)	31 (24,8 ± 3,9)	–	
TNM стадия I, n (%) TNM stage I, n (%)	11 (8,8 ± 2,5)	–	
TNM стадия II, n (%) TNM stage II, n (%)	23 (18,4 ± 3,5)	–	
TNM стадия III, n (%) TNM stage III, n (%)	65 (52,0 ± 4,5)	–	
TNM стадия IV, n (%) TNM stage IV, n (%)	26 (20,8 ± 3,6)	–	

Original Articles

Таблица 1. Предикторы развития ГЦК в РС (Я)**Table 1. Predictors of the development of HCC in the Republic of Sakha (Yakutia)**

Радикальные оперативные вмешательства (абляция, резекция, пересадка печени), n (%) Radical surgical interventions (ablation, resection, liver transplant), n (%)	12 (9,6 ± 2,6)	–	
Средняя продолжительность жизни после постановки диагноза ГЦК (месяцы) Life expectancy after HCC diagnosis (months)	13,7 ± 2,4	–	

Таблица 2. Основные клинико-лабораторные проявления у больных ГЦК в исходе ХВГ (n = 125)**Table 2. The main clinical and laboratory manifestations in patients with HCC in the outcome of chronic hepatitis B (n = 125)**

Показатель Index	Частота встречаемости/ Среднее значение Frequency of occurrence/Mean
Астеновегетативный синдром, n (%) Asthenovegetative syndrome, n (%)	113 (90,4 ± 2,6)
Болевой синдром, n (%) Pain syndrome, n (%)	107 (85,6 ± 3,1)
Интоксикация, n (%) Intoxication, n (%)	86 (68,8 ± 4,1)
Диспептический синдром, n (%) Dyspeptic syndrome, n (%)	68 (54,4 ± 4,5)
Печеночная энцефалопатия, n (%) Hepatic encephalopathy, n (%)	40 (32,0 ± 4,2)
Кровотечение из варикозно-расширенных вен пищевода, n (%) Bleeding from varicose veins of the esophagus, n (%)	35 (28,0 ± 4,0)
Отечно-асцитический синдром, n (%) Edema-ascitic syndrome, n (%)	47 (37,6 ± 4,3)
Желтуха, n (%) Jaundice, n (%)	55 (44,0 ± 4,4)
Артралгический синдром, n (%) Arthralgic syndrome, n (%)	32 (25,6 ± 3,9)
Гинекомастия, n (%) Gynecomastia, n (%)	10 (8,0 ± 2,4)
Телеангиоэктазии, n (%) Teleangiectasia, n (%)	85 (68,0 ± 4,2)
Гепатомегалия, n (%) Hepatomegaly, n (%)	77 (61,6 ± 4,4)
Спленомегалия, n (%) Splenomegaly, n (%)	32 (25,6 ± 3,9)
Лейкоциты (109/л) White blood cells	9,5 ± 1,6
Альбумин (г/л), среднее значение Albumin (g/l), average	26,9 ± 0,79
Общий билирубин (мкмоль/л), среднее значение Total bilirubin (μmol/L), average	118,6 ± 20,8
Гамма-глутамилтранспептидаза (Ед/л), среднее значение Gamma-glutamyltranspeptidase (U/L), average	208,6 ± 24,9
Щелочная фосфатаза (Ед/л), среднее значение Alkaline phosphatase (U/L), average	234,8 ± 26,9

населения. ГЦК чаще развивается на фоне хронического вирусного гепатита в стадии продвинутого ЦП. Среди вирусных агентов у больных ГЦК существенно чаще, чем при ЦП без ГЦК, встречается

гепатит D. У коренных жителей республики наблюдается быстрое прогрессирование гепатита D с развитием в терминальной стадии ЦП и первичного рака печени. У больных ГЦК наиболее часто

встречается D-генотип вируса гепатита В, первый генотип вируса гепатита D и 1b генотип гепатита С. Структура генотипов вирусов парентеральных гепатитов не отличается у больных ГЦК и ЦП.

Основные пути снижения заболеваемости ГЦК в РС (Я) определяются эффективностью мероприятий по снижению заболеваемости хроническими вирусными гепатитами (и прежде всего гепатитом D), охватом вакцинацией против гепатита В групп риска, широким применением противовирусного лечения

гепатита С, а также ранней диагностикой рака печени путем инструментального мониторинга и определения уровня альфа-фетопротеина при проведении диспансеризации больных хроническими гепатитами.

Пропаганда здорового образа жизни, направленная на снижение приверженности вредным привычкам, позволит уменьшить значение дополнительных факторов риска развития ЦП и ГЦК.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-415-140001.

Литература

1. Пименов Н. Н., Комарова С. В., Карандашова И. В. и др. Гепатит С и его исходы в России: анализ заболеваемости распространенности и смертности до начала программы элиминации инфекции // *Инфекционные болезни*. 2018. Т. 16, № 3. С. 37–45.
2. Мерабишвили В. М., Мерабишвили Э. Н., Чепик О. Ф. Эпидемиология рака печени. Заболеваемость, смертность, динамика гистологической структуры. // *Сибирский онкологический журнал*. 2015. №2. С. 5–14.
3. Бредер В. В., Косырев В. Ю., Кудашкин Н. Е. и др. Гепатоцеллюлярный рак в Российской Федерации как социальная и медицинская проблема. // *Медицинский совет*. 2016. № 10. С. 10–18.
4. Yang JD, Hainaut P, Gores GJ, et al. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(10):589–604.
5. Massarweh NN, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Control*. 2017 Jul-Sep;24(3):1073274817729245. doi: 10.1177/1073274817729245.
6. Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population [abstract]. *J Clin Gastroenterol*. 2013; Vol. 47. Suppl: S2–6.
7. Слепцова С. С. Парентеральные вирусные гепатиты и их исходы в Республике Саха (Якутия). М.: Чеховский печатный двор; 2017.
8. Слепцова С. С., Билюкина И. Ф. Предикторы развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных хроническими вирусными гепатитами в Республике Саха (Якутия) // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2019. Т. 8, № 1. С. 28–33.
9. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитами В и С. В. Т. Ивашкин, Н. Д. Юшук, ред. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
10. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subject. *JAMA*. 2013;310(20):2191–2194.
11. Babor T, Higgins-Biddle JC, Saunders JB, et al. (2001). AUDIT – The Alcohol Use Disorders Identification Test: Guidelines for Use in Primary Health Care (2nd edn). Geneva: World Health Organization.
12. Kim HS, El-Serag HB. The Epidemiology of hepatocellular carcinoma in the USA. *Curr Gastroenterol Rep*. 2019;2(4):17.
13. El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2012;142 (6):1264–1273.e1.
14. Agyemang-Yeboah F, Eghan BAJ, Annani-Akollor ME, et al. Evaluation of metabolic syndrome and its associated risk factors in type 2 diabetes: a descriptive cross-sectional study at the komfo anokye teaching hospital, Kumasi, Ghana. *Biomed Res Int*. 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4562904>.
15. Ioannou GN, Green P, Lowy E et al. Differences in hepatocellular carcinoma risk, predictors and trends over time according to etiology of cirrhosis. *PLoS One*. 2018;13(9):e0204412.
16. Ивашкин ВТ, Маев ИВ, Каприн АД и др. Раннее выявление онкологических заболеваний органов пищеварения (методическое руководство Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации онкологов России для врачей первичного звена здравоохранения). *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2019. Т. 29, № 5. С. 53–74.

References

1. Pimenov NN, Komarova SV, Karandashova IV, et al. Hepatitis C and its outcomes in Russia: analysis of incidence, prevalence and mortality rates before the start of the programme of infection elimination. *Infectious diseases*. 2018;16(3):37–45. (In Russ). doi: 10.20953/1729-9225-2018-3-37-45
2. Merabishvili VM, Merabishvili EN, Chepik OF. Epidemiology of liver cancer. Morbidity, mortality, dynamics of histological structure. *Siberian journal of oncology*. 2015;2:5–14. (In Russ).
3. Breder VV, Kosyrev VY, Kudashkin NE, et al. Hepatocellular carcinoma as a social and medical problem in the Russian Federation. *Meditinskiy sovet*. 2016; 10:10–8. (In Russ.). doi:10.21518/2079-701X-2016-10-10-16.
4. Yang JD, Hainaut P, Gores GJ, et al. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(10):589–604.
5. Massarweh NN, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Control*. 2017 Jul-Sep;24(3):1073274817729245. doi: 10.1177/1073274817729245.
6. Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population [abstract]. *J Clin Gastroenterol*. 2013;47: S2–6.
7. Sleptsova SS. Parenteral viral hepatitis and their origin in the Republic of Sakha (Yakutia). Moscow, 2017: Chekhovskii pechatnii dvor; 208. (In Russ.).
8. Sleptsova SS, Bilyukina IF. Predictors development of hepatocellular carcinoma of patients with chronic viral hepatitis in the Republic of Sakha (Yakutia). *Infectious diseases: news, opinions, education*. 2019;8(1):28–33. (In Russ).
9. Rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu vzroslykh bol'nykh gepatitami B i C: Klinicheskie rekomendatsii. Ed.: Ivashkin VT, Yushchuk ND. Moscow: Izdatel'stvo «GEOTAR-Media»; 2015. (In Russ).
10. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subject. *JAMA*. 2013;310(20):2191–2194.
11. Babor T, Higgins-Biddle JC, Saunders JB, et al. (2001). AUDIT – The Alcohol Use Disorders Identification Test: Guidelines for Use in Primary Health Care (2nd edn). Geneva: World Health Organization.
12. Kim HS, El-Serag HB. The Epidemiology of hepatocellular carcinoma in the USA. *Curr Gastroenterol Rep*. 2019;2(4):17.
13. El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2012;142 (6):1264–1273.e1.
14. Agyemang-Yeboah F, Eghan BAJ, Annani-Akollor ME, et al. Evaluation of metabolic syndrome and its associated risk factors in type 2 diabetes: a descriptive cross-sectional study at the komfo anokye teaching hospital, Kumasi, Ghana. *Biomed Res Int*. 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4562904>.
15. Ioannou GN, Green P, Lowy E, et al. Differences in hepatocellular carcinoma risk, predictors and trends over time according to etiology of cirrhosis. *PLoS One*. 2018;13(9):e0204412.
16. Ivashkin VT, Mayev IV, Kaprin AD, et al. Early detection of oncological diseases of the digestive system (methodological guide of the Russian Gastroenterological Association and the Association of Russian Oncologists for primary care physicians). *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2019;29(50):53–74.

Об авторах

- **Снежана Спиридоновна Слепцова** – д. м. н., доцент, заведующая кафедрой инфекционных болезней, фтизиатрии и дерматовенерологии Медицинского института Северо-Восточного федерального университета им. М. К. Аммосова. +79142718770, sssleptsova@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-0103-4750.
- **Сергей Игоревич Малов** – к. м. н., доцент кафедры инфекционных болезней Иркутского государственного медицинского университета; старший

About the Authors

- **Snezhana S. Spiridonovna** – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Infectious Diseases, Phthisiology and Dermato-venereology of Medical Institute of the North-Eastern Federal University in Yakutsk. +79142718770, sssleptsova@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-0103-4750.
- **Evgeny D. Savilov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate

научный сотрудник Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования непрерывного профессионального образования» Минздрава России, 664003, г. Иркутск, ул. Красного восстания 1. +73952243825, LYNX2000@mail.ru. ORCID: 0000-0002-3135-4616.

- **Евгений Дмитриевич Савилов** – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека. +7 (3952) 33-34-23. savilov47@gmail.com. ORCID: 0000-0002-9217-6876
- **Сергей Иннокентьевич Семенов** – д. м. н., главный научный сотрудник Научно-исследовательского центра Северо-Восточного федерального университета им. М. К. Аммосова. +79142862948, insemenov@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8099-2270.
- **Валентина Климовна Семенова** – старший преподаватель кафедры инфекционных болезней, фтизиатрии и дерматовенерологии медицинского института Северо-Восточного Федерального Университета им. М. К. Аммосова. +79245977227, Svk.valia@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1477-3592.
- **Лилия Александровна Степаненко** – к. м. н., старший научный сотрудник НИИ биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета. +79149005545, steplia@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5792-7283.
- **Олег Борисович Огарков** – д. м. н., заведующий отделом эпидемиологии и микробиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека; ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования. +79642255258, obogarkov@mail.ru. ORCID: 0000-0002-3168-1983.
- **Игорь Владимирович Малов** – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней Иркутского государственного медицинского университета. +7(3952) 24-38-25, igmumalov@gmail.com. ORCID: 0000-0002-3135-4616.

Поступила: 16.02.2020. Принята к печати: 25.05.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Education; Chief Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific

- Centre for Family Health and Human Reproduction Problems. +7 (3952) 33-34-23, savilov47@gmail.com. ORCID: 0000-0002-9217-6876.
- **Sergey I. Malov** – Cand. Sci. (Med.), associate professor of the Department of Infectious Diseases, Irkutsk State Medical University, 1 bld. Krasnogo voss-taniya, Irkutsk, 664003, Russia +73952243825, LYNX2000@mail.ru. ORCID: 0000-0002-3135-4616.
- **Sergey I. Semenov** – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher of Research Center of the North-Eastern Federal University in Yakutsk, +79142862948, insemenov@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8099-2270.
- **Valentina K. Semenova** – Senior Lecturer, Department of Infectious Diseases, Phthiisology and Dermatovenerology of Medical Institute of the North-Eastern Federal University in Yakutsk. +79245977227, Svk.valia@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1477-3592.
- **Liliya A. Stepanenko** – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Research Institute of Biomedical Technologies of Irkutsk State Medical University. +79149005545, steplia@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5792-7283.
- **Oleg B. Ogarkov** – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Epidemiology and Microbiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Leading Researcher of Central Research Laboratory of Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education. +79642255258, obogarkov@mail.ru. ORCID: 0000-0002-3168-1983.
- **Igor V. Malov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Irkutsk State Medical University. +7(3952) 24-38-25, igmumalov@gmail.com. ORCID: 0000-0002-3135-4616.

Received: 16.02.2020 Accepted: 25.05.2020

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

ИНФОРМАЦИЯ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

О заседании Совета главных государственных санитарных врачей стран ЕАЭС по обсуждению ситуации с новой коронавирусной инфекцией

Пресс-релиз от 30.06.2020 г.

Государства-члены Евразийского экономического союза в ходе заседания Совета руководителей уполномоченных органов в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения государств-членов ЕАЭС (Совет руководителей) обсудили текущую ситуацию с распространением инфекционного заболевания, вызванного новым коронавирусом (COVID-19) и реализацию странами Союза противоэпидемических мероприятий в связи с выявляемыми случаями COVID-19. В заседании Совета также приняли участие представители Узбекистана и Таджикистана.

Мероприятие традиционно состоялось в режиме видеоконференции 29 июня под председательством руководителя Роспотребнадзора – Главного государственного санитарно-врача Российской Федерации Анны Поповой.

Участниками было отмечено, что несмотря на различную эпидемиологическую ситуацию в странах евразийского региона в целом распространение заболевания удается контролировать, о чем свидетельствует выявление достаточно большого количества бессимптомных случаев протекания заболевания COVID-19.

В условиях пандемии коронавируса Роспотребнадзор стремится оказывать партнерам комплексную поддержку в борьбе с COVID-19. Помощь заключается не только в поставках тест-систем и реагентов, предоставлении методических материалов, но и в организации визитов профильных специалистов в целях оказания содействия в проведении противоэпидемических и профилактических мероприятий на основе опыта Российской Федерации. Советующие мис-

сии уже побывали в Таджикистане и Молдавии. Участники заседания с интересом восприняли данную информацию.

Советом руководителей также отмечена необходимость повышения открытости и доступности результатов научных исследований по COVID-19 на русском языке путем большей публикации статей и научных материалов в открытых источниках. Также данная работа будет способствовать формированию взгляда на коронавирус с точки зрения различных научных направлений.

На заседании отмечено, что подготовленный Советом руководителей проект Комплексного плана мероприятий в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия и здравоохранения, направленных на предупреждение распространения коронавирусной и других опасных инфекций в целом одобрен Коллегией Комиссии и готов к рассмотрению Советом Комиссии и Евразийским межправительственным советом.

Советом руководителей также решено ускорить согласование временных санитарно-эпидемиологических требований к организации объектов работы «зеленых коридоров» между государствами Союза.

Постоянное обсуждение вопросов взаимодействия государств-членов и партнеров Союза по борьбе с распространением COVID-19 позволяет управлять эпидемиологической ситуацией на едином пространстве евразийского региона и способствует обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Источник: <https://www.rospotrebnadzor.ru/>

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-41-45>

Распространение эндемичных субклонов Beijing B0/W148 *M. tuberculosis* на территориях Сибирского и Дальневосточного федеральных округов по результатам полногеномного секвенирования

П. А. Хромова*, В. В. Синьков, Е. Д. Савилов, С. Н. Жданова, О. Б. Огарков

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск

Резюме

Актуальность. Впервые описана генетическая неоднородность эпидемического кластера B0/W148, являющегося наиболее «успешным» штаммом возбудителя туберкулеза в России и в мире. **Цель.** Создание эпидемиологической модели распространения штаммов туберкулеза B0/W148 на территории Сибирского и Дальневосточного федеральных округов (СФО и ДФО) с выявлением генетической взаимосвязи между исследуемыми штаммами и изолятами из западных регионов России. **Результаты и обсуждения.** Проведено сравнительное исследование распределения однонуклеотидного полиморфизма (SNP) в геномах 20 штаммов из СФО и ДФО с аналогичными данными от 62 близкородственных штаммов из западных регионов России. На основе байесовского филогенетического древа построена эпидемиологическая модель возникновения и распространения высоко-трансмиссивных штаммов *M. tuberculosis* кластера B0/W148 в России. По результатам моделирования выявлены и охарактеризованы Сибирский и Якутский субкластеры B0/W148.

Ключевые слова: туберкулез, эндемичные субклоны B0/W148, NGS, филогенетический анализ, Дальневосточный федеральный округ (ДФО), Сибирский федеральный округ (СФО)

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Хромова П. А., Синьков В. В., Савилов Е. Д. и др. Распространение эндемичных субклонов Beijing B0/W148 *M. tuberculosis* на территориях Сибирского и Дальневосточного федеральных округов по результатам полногеномного секвенирования. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2020;19(3):41–45. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-41-45>.

Dispersal of Beijing B0/W148 *M. tuberculosis* Endemic Subclones in Territories of the Siberia and Far Eastern Federal District by Whole Genome Study

PA Khromova**, VV Sinkov, ED Savilov, SN Zhdanova, OB Ogarkov
Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems

Abstract

Relevance. The heterogeneity of the epidemic cluster B0/W148 in Russia is described for the first time. **Aim** of investigation was to create an epidemic model of tuberculosis strains B0/W148 spreading in Siberian Federal District (SFD) and Far Eastern Federal District (FEFD) and to identify the genetic relationship between the studied strains. **Results and discussion.** A comparative study of single nucleotide polymorphism (SNP) distribution in genomes of 20 strains from the SFD and FEFD and similar data in 62 strains from other regions of Russia was carried out. Based on Bayesian phylogenetic analysis was proposed epidemiological model of the emergence and spread of highly transmissible strains the B0/W148 cluster of *M. tuberculosis* in Russia. Siberian and Yakutian subclusters were identified and characterized by the simulation results.

Key words: tuberculosis, endemic subclones B0/W148, NGS, phylogenetic analysis, Far Eastern Federal District, Siberian Federal District

No conflict of interest to declare.

For citation: Khromova PA, Sinkov VV, Savilov ED, et al. Dispersal of Beijing B0/W148 *M. tuberculosis* Endemic Subclones in Territories of the Siberia and Far Eastern Federal District by Whole Genome Study. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):41–45. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-41-45>.

* Для переписки: Хромова Полина Андреевна, мл. научн. сотр. Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, +79041455222, polina.and38@gmail.com. ©Хромова П. А. и др.

** For correspondence: Khromova Polina A., Junior Research of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems. +79041455222, polina.and38@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>. ©Khromova PA et al.

Введение

Одной из важнейших проблем общественного здравоохранения является туберкулёз (ТБ), от которого в мире ежегодно умирает почти два миллиона человек [1]. Это инфекционное заболевание входит в число десяти главных причин смерти во многих развивающихся странах. По данным ВОЗ, на 30 государств приходится 87% от всех зарегистрированных случаев ТБ, с минимальным уровнем заболеваемости (по 3%) в Европейском и Американском регионах [1]. Следует отметить, что туберкулез относится к социально значимым заболеваниям и во многом зависит от экономического развития той или иной страны: в регионах с высоким уровнем дохода населения ежегодно регистрируется менее 10 новых случаев на 100 тыс. населения, в большинстве же государств с высоким бременем ТБ этот показатель составлял 150–400 случаев [1].

К сожалению, уровень заболеваемости ТБ в Российской Федерации находится на довольно высоком уровне, что особенно характерно для субъектов Сибирского (СФО) и Дальневосточного федеральных округов (ДФО). В этих регионах показатель общей заболеваемости по туберкулезу в 2018 г. сильно варьирует: от минимальных ее значений в Республике Хакасия (44,7 на 100 тыс. населения), до максимальных – в Республике Тыва (138,4 на 100 тыс. населения) и Чукотском автономном округе (187,4 на 100 тыс. населения). Заболеваемость выше 100 на 100 тыс. населения сохраняется в 4 из 21 субъекта СФО и ДФО: (Республика Тыва, Приморский край, Еврейская автономная область, Чукотский автономный округ) [2].

Российская Федерация, как и большинство стран постсоветского пространства, входит в число регионов с высоким бременем МЛУ/ШЛУ-ТБ (туберкулез с множественной/ и широкой лекарственной устойчивостью), который во многом определяет неблагоприятное развитие туберкулезной инфекции как на организменном, так и на популяционном уровнях [3]. При этом в СФО и ДФО заболеваемость туберкулезом с МЛУ-ТБ превышает среднероссийский уровень в 1,4–1,7 раза [4].

Понятно, что как заболеваемость, так и распространенность туберкулеза во многом зависит от ее этиологического компонента. В этой связи отметим, что популяция возбудителя этого заболевания в различных странах мира достаточно гетерогенна и представлена разнообразными генетическими семействами. На территории России эти семейства представлены преимущественно генотипом Beijing [5]. Наибольшее клинико-эпидемиологическое значение имеет штамм B0/W148, который повсеместно встречается на территории Российской Федерации и стран бывшего Советского Союза [6]. Этот эпидемический клон генотипа Beijing впервые был описан в 1999 г. и обозначен как B0 [7]. Обозначение W148 он получил в 2002 г. при исследовании крупной вспышки в Нью-Йорке [8].

Интерес к изучению именно этого этиологического агента связан с тем, что вариант B0/W148 *M. tuberculosis* считается наиболее «успешным» клоном генотипа Beijing, для которого характерны высокие уровни патогенности, вирулентности и способность быстро формировать устойчивость к большинству противотуберкулезных препаратов [6,9–11]. Однако его распределение в человеческой популяции неоднородно, например, в России этот вариант наиболее часто встречается в Сибири (19–22%) и гораздо реже в европейской части России и странах бывшего Советского Союза (7–13%) [9].

В настоящее время отсутствуют достоверные данные о происхождении клона B0/W148, однако существует гипотеза, предполагающая, что данный вариант *M. tuberculosis* возник в Сибири и его первичное распространение на европейскую часть России произошло в 1960–1980 гг. вследствие массовой миграции населения [9].

Цель работы – создание эпидемической модели распространения штаммов туберкулеза B0/W148 на территории СФО и ДФО с выявлением генетической взаимосвязи между исследуемыми штаммами и изолятами из западных регионов России.

Материалы и методы

Штаммы. Выделение геномной ДНК из культур проводилось с использованием набора ДНК-сорб-В (Интерлабсервис, Россия). Определение B0/W148 генотипа Beijing осуществлялось согласно ранее предложенному методу [12] и по динуклеотидной делеции в гене *kdpD* [13]. Для полногеномного секвенирования было отобрано 20 образцов: Республика Саха (Якутия) – 6, Республика Бурятия – 5, Забайкальский край – 5, Иркутская область – 4. Приготовление библиотек выполняли по протоколу Nextera XT в соответствии с рекомендациями производителя (Illumina, США). Секвенирование реализовывалось на приборе NextSeq 550.

Геномы. Группа сравнения была представлена 62 геномами, отнесенными нами к эпидемическому клону B0/W148 по наличию специфической нуклеотидной замены Rv0003 807G > T, описанной Шитиковым Е. А. с соавт. в 2017 г. [14]. Данные геномы находятся в свободном доступе и являются частью следующих проектов, зарегистрированных в NCBI: PRJEB2138, PRJNA352769, PRJNA447918.

Биоинформационный анализ. Полученные короткие прочтения выравнивались относительно референсной нуклеотидной последовательности при помощи программы BWA [15]. В качестве референсной последовательности ДНК был использован полный геном *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv-NC_000962. Поиск однонуклеотидных полиморфных локусов (SNP calling) произведен с применением программы Vcftools. Создание конкатентной последовательности было осуществлено

с использованием программы bsatool, качество ридов выбрано с покрытием (coverage) больше 30. Межгенные регионы, мобильные элементы, PE- и PPE-гены и гены лекарственной устойчивости были исключены из последовательности для исключения влияния селективного отбора на филогенетические модели. Для определения оптимальной модели была использована программа ModelFinder, которая представлена в IQ-TREE [16]. Филогенетическое дерево было построено с использованием программы Beast2 [17] с применением общей реверсивной модели эволюции. Оценку лог-файлов Beast проводили с помощью Tracer v1.7.1 [18].

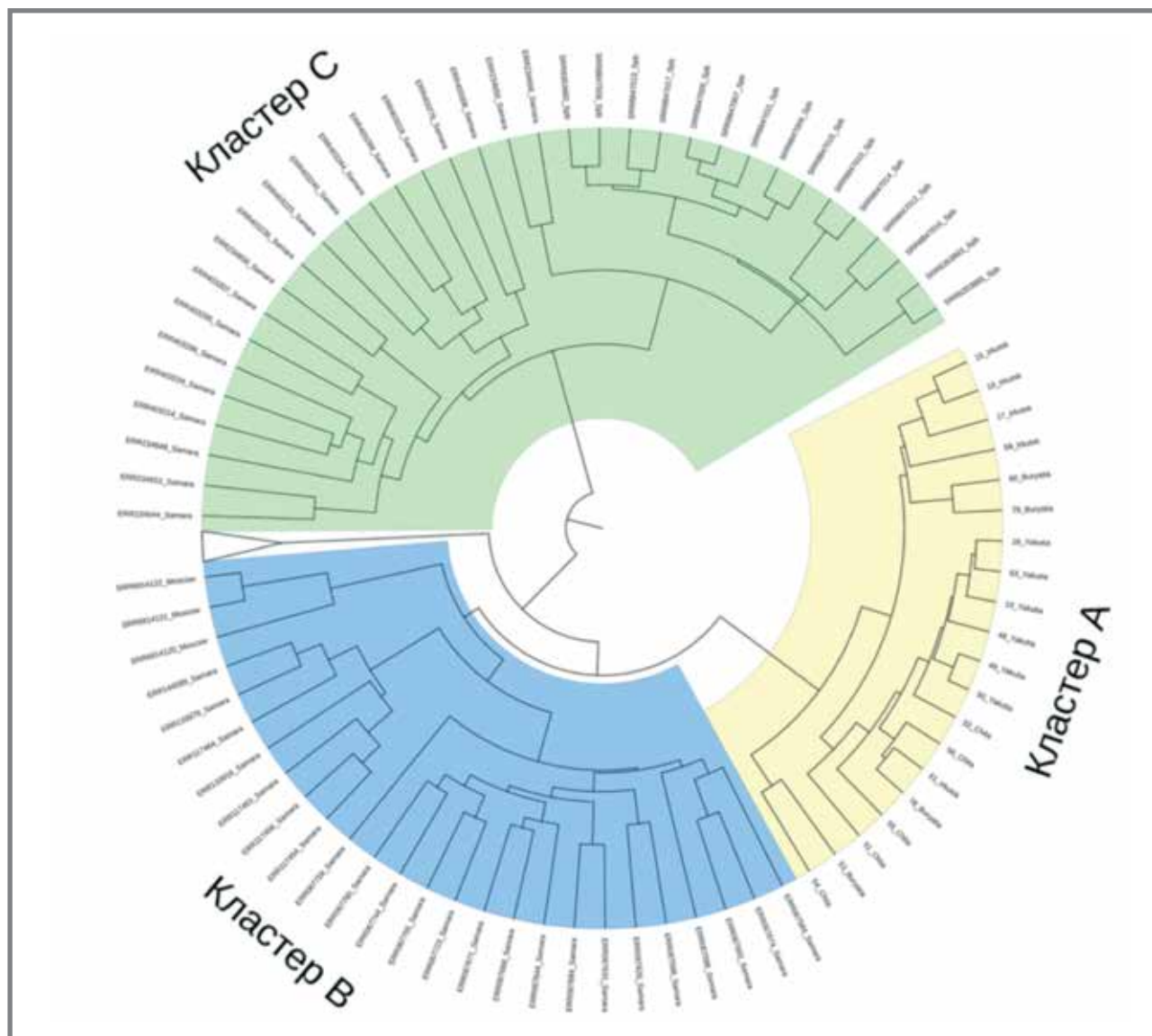
Все параметры, полученные методом Монте-Карло по схеме марковских цепей (MCMC), демонстрировали значение эффективного размера выборки (ESS) больше 200 [19]. Тестирование

нуклеотидных последовательностей на соответствие определенной модели накопления замен выполнялось с помощью программы IQ-TREE. Обнаружено, что наилучшей моделью является GTR с частотной коррекцией встречаемости аминокислотных остатков в последовательности и четырьмя гамма-категориями (GTR+F+4G) [19]. Данная модель была выбрана для расчетов с помощью BEAST для реконструкции филогенетических деревьев Байесовским методом с молекулярными часами.

Результаты и обсуждение

Филогенетический анализ исследуемых геномов *M. tuberculosis* B0/W148 позволил разделить их на три самостоятельные эволюционно дискретные группы, обозначенные как кластеры А, В и С (рис. 1).

Рисунок 1. Байесовское филогенетическое дерево 82 геномов *M. tuberculosis* генотипа Beijing B0/W148, построенное по 1628 переменным нуклеотидным позициям
Figure 1. Bayesian phylogenetic tree of 82 genomes of *M. tuberculosis* of the Beijing B0/W148 genotype, constructed from 1628 variable nucleotide positions



Представленный на рисунке кластер А состоит из штаммов, выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока (Иркутская область, Республика Бурятия, Чита, Республика Саха (Якутия)), нуклеотидные последовательности которых были получены в ходе настоящего исследования. Кластер В преимущественно состоит из штаммов, выделенных на территории Самарской и Московской областей, а кластер С представлен штаммами из Самарской области и Санкт-Петербурга. Следует отметить, что характер формирования кластеров на филогенетическом древе соответствует регионам циркуляции возбудителя, что позволяет высказать предположение об изолированном характере эволюции эпидемического клона B0/W148 на отдельно взятых территориях.

В процессе биоинформационного анализа среди всех исследуемых геномов выявлено наличие уникальных молекулярных маркеров у группы штаммов, входящих в кластер А (сибирский): два однонуклеотидных полиморфизма (SNP), картированных в межгенных регионах (3846707A > C, 3846704A > G). Интересно, что внутри впервые обнаруженного сибирского кластера B0/W148 (кластер первого порядка) наблюдается формирование еще более мелких субкластеров (кластеры второго порядка), то есть штаммы, циркулирующие на территории Якутии, из кластера B0/W148 имеют свои уникальные SNP (Rv1700 1925823 242T > G).

На сегодняшний день в России и странах бывшего Советского Союза наблюдается сложная эпидемиологическая ситуация по туберкулезной инфекции, которая, не в последнюю очередь, связана с доминирующим положением генотипа Beijing *M. tuberculosis* на рассматриваемых территориях и способностью его отдельных субтипов значимо чаще формировать лекарственную устойчивость к противотуберкулезным препаратам.

Необходимо отметить, что B0/W148, как часть генотипа Beijing, играет ключевую роль в развитии

лекарственной устойчивости эпидемии туберкулеза в России. Кроме этого, данный эпидемический клон является уникальным объектом исследования, так как носит эндемичный характер для России и стран бывшего Советского Союза, что исключает завозные случаи и дает возможность оценить процессы распространения туберкулезной инфекции на обширных территориях.

Выявление уникальных кластеров эпидемического клона B0/W148 на территориях сопредельных регионов (Иркутская область, Республика Бурятия, Чита, Республика Саха (Якутия)) с характерными специфическими молекулярными маркерами может свидетельствовать о локальном характере распространения патогена на рассматриваемых территориях. Поскольку туберкулез является инфекцией с отложенным началом болезни, можно предположить, что характер его экспансии в человеческой популяции будет иметь медленный («ползучий») характер. Таким образом, выявление на территориях четырех административных субъектов общей площадью более 4,5 млн кв. км единого субтипа (кластер А) B0/W148 может быть признаком «древнего» характера его происхождения. В пользу этой гипотезы говорит тот факт, что штаммы из группы сравнения, находящиеся в относительной близости (Самарская область, Москва и Санкт-Петербург), имеют признаки кластеризации соответственно региону их циркуляции.

Выявленный нами территориально-ассоциированный характер распространения B0/W148 расширяет возможности его молекулярно-эпидемиологического картирования и позволяет более широко использовать в эпидемиологическом надзоре при расследовании неблагоприятно развития эпидемиологической ситуации при туберкулезе, когда требуется раздельное выявление завозных и местных случаев инфекции.

Работа поддержана грантом
РФФИ 20-015-00041 А.

Литература

1. World Health Organisation. *Global tuberculosis report 2018*. France: World Health Organization; 2018.
2. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в Российской Федерации в 2018 году. 2018. Доступно на: https://mednet.ru/images/materials/CMT/2018_god_tuberkulez_epidsituaciya.pdf. Ссылка активна на 06.04.2020.
3. Васильева И. А., Белиловский Е. М., Борисов С. Е. и др. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя в странах мира и в Российской Федерации. // *Туберкулез и болезни легких*. 2017. Т. 95. № 11. С. 5–17.
4. Алексеева Т. В., Ревякина О. В., Филиппова О. П. и др. Туберкулез в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах (2007–2016 гг.). // *Туберкулез и болезни легких*. 2017. Т. 95. № 8. С. 12–17.
5. Mokrousov I, Otten T, Vyazovaya A et al. PCR-based methodology for detecting multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family circulating in Russia. // *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2003. Vol. 22. N 6. P. 342–348.
6. Синьков В. В., Савилов Е. Д., Огарков О. Б. Эпидемиология туберкулеза в России: эпидемиологические и исторические доказательства в пользу сценария распространения «пекинского» генотипа *M. tuberculosis* в XX веке. // *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2010. Т. 9. № 6. С. 23–28.
7. Нарвская О. В., Мокроусов И. В., Оттен Т. Ф. и др. Генетическое маркирование полирезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных на Северо-Западе России. // *Проблемы туберкулеза*. 1999. Т. 79. № 3. С. 39–41.
8. Bifani P. J., Mathema B., Kurepina N. E. et al. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains. // *Trends in microbiology*. 2002. Vol. 10. N 1. P. 45–52.
9. Mokrousov I. Insights into the origin, emergence, and current spread of a successful Russian clone of *Mycobacterium tuberculosis*. // *Clinical microbiology reviews*. 2013. Vol. 26. N 2. P. 342–360.
10. Ribeiro S. C., Gomes L. L., Amaral E. P. et al. *Mycobacterium tuberculosis* strains of the modern sublineage of the Beijing family are more likely to display increased virulence than strains of the ancient sublineage. // *Journal of clinical microbiology*. 2014. Vol. 52. N 7. P. 2615–2624.
11. Савилов Е. Д., Синьков В. В., Огарков О. Б. Эпидемиология туберкулеза на Евро-Азиатском континенте: оценка глобального движения штаммов генотипа «Пекин». Монография, Иркутск, 2013.
12. Хромова П. А., Огарков О. Б., Жданова С. Н. и др. Выявление высокотрансмиссивных генотипов возбудителя в клиническом материале для прогноза неблагоприятного течения туберкулеза. // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017. Т. 62. № 10. С. 622–627.

13. Огарков О. Б., Синьков В. В., Жданова С. Н., Рычкова Л. В. Олигонуклеотидные праймеры, флуоресцентные ДНК-зонды и способ выявления *Mycobacterium tuberculosis* клонального комплекса 2-W148 генотипа Beijing в клинических образцах. Патент ЕАПО на изобретение № 032489. 28.06.2019. Доступно на: [https://www.eapo.org/ru/publications/publicat/search.php?SEARCH\[id\]=032489](https://www.eapo.org/ru/publications/publicat/search.php?SEARCH[id]=032489). Ссылка активна на 27.03.2020.
14. Shitikov E, Kolchenko S, Mokrousov I, et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. // *Scientific reports*. 2017. Vol. 7. N 1. P. 1–10.
15. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. // *Bioinformatics*. 2009. Vol. 25. N 14. P. 1754–1760.
16. Nguyen L. T., Schmidt H. A., Von Haeseler A. et al. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies // *Molecular biology and evolution*. 2015. Vol. 32. N 1. P. 268–274.
17. Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, et al. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. // *PLoS computational biology*. 2014. Vol. 10. N 4.
18. Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, et al. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. // *Systematic biology*. 2018. Vol. 67. N 5. P. 901.
19. Drummond AJ, Bouckaert RR. *Bayesian evolutionary analysis with BEAST*. Cambridge University Press; 2015.

References

1. World Health Organisation. *Global tuberculosis report 2018*. France: World Health Organization; 2018.
2. *Epidemicheskaya situatsiya po tuberkulezu v Rossiyskoy Federatsii v 2018 godu*; 2018. Available at: https://mednet.ru/images/materials/CMT/2018_god_tuberkulez_epid-situatsiya.pdf. Accessed: 06 April 2020. (In Russ).
3. Vasilyeva IA, Belilovsky EM, Borisov SE, et al. Multidrug resistant tuberculosis in the countries of the outer world and in the Russian Federation. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017; 95 (11): 5–17. (In Russ.). doi:10.21292/2075-1230-2017-95-11-5-17
4. Alekseeva TV, Revyakina OV, Filippova OP, et al. Tuberculosis in Siberian and Far Eastern federal districts (2007–2016). *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017;95(8):12–17. (In Russ.). doi:10.21292/2075-1230-2017-95-8-12-17.
5. Mokrousov I, Otten T, Vyazovaya A, Limeschenko E, et al. PCR-based methodology for detecting multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family circulating in Russia. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2003;22(6):342–348. doi:10.1007/s10096-003-0944-0.
6. Sinkov VV, Savilov ED, Ogarkov OB. Epidemiology of Tuberculosis in Russia: Epidemiological and Historical Evidences in Favor of the Scenario Distribution of Beijing Genotype *M. tuberculosis* in the XX Century. *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 2010;9(6):23–28. (In Russ).
7. Narvskaya OV, Mokrousov IV, Otten TF, et al. Genetic labeling of multiresistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolated in North-West Russia. *Problems of tuberculosis*. 1999; 79(3):39–41. (In Russ).
8. Bifani PJ, Mathema B, Kurepina NE, et al. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains. *Trends in microbiology*. 2002;10(1):45–52. doi:10.1016/s0966-842x(01)02277-6.
9. Mokrousov I. Insights into the origin, emergence, and current spread of a successful Russian clone of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical microbiology reviews*. 2013;26(2):342–360.
10. Ribeiro SC, Gomes LL, Amaral EP, et al. *Mycobacterium tuberculosis* strains of the modern sublineage of the Beijing family are more likely to display increased virulence than strains of the ancient sublineage. *Journal of clinical microbiology*. 2014; 52(7):2615–2624. doi: 10.1128/CMR.00087-12.
11. Savilov ED, Sinkov VV, Ogarkov OB. Epidemiologiya tuberkuleza na Evro-Aziatskom kontinente: oценка globalnogo dvizheniya shtammov genotipa «Pekin». Monograph, Irkutsk, 2013. (In Russ).
12. Hromova PA, Ogarkov OB, Zhdanova SN, et al. The detection of highly-transmissible genotypes of agent in clinical samples for prognosis of unfavorable course of tuberculosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017; 62(10):622–627. (In Russ).
13. Ogarkov OB, Sinkov VV, Zhdanova SN, et al. Олигонуклеотидные праймеры, флуоресцентные ДНК-зонды и способ выявления *Mycobacterium tuberculosis* клонального комплекса 2-W148 генотипа Beijing в клинических образцах. Патент ЕАПО № 032489. 28.06.2019. Available at: [https://www.eapo.org/ru/publications/publicat/search.php?SEARCH\[id\]=032489](https://www.eapo.org/ru/publications/publicat/search.php?SEARCH[id]=032489). Accessed: 27 March 2020. (In Russ).
14. Shitikov E, Kolchenko S, Mokrousov I, et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *Scientific reports*. 2017; 7(1):1–10. doi: 10.1038/s41598-017-10018-5.
15. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009; 25(14):1754–1760. doi: 10.1093/bioinformatics/btp324
16. Nguyen LT, Schmidt HA, Von Haeseler A, et al. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution*. 2015;32(1):268–274. doi: 10.1093/molbev/msu300.
17. Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, et al. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*. 2014;10(4). doi:10.1371/journal.pcbi.1003537.
18. Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, et al. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology*. 2018; 67(5):901. doi:10.1093/sysbio/syy032
19. Drummond AJ, Bouckaert RR. *Bayesian evolutionary analysis with BEAST*. Cambridge University Press; 2015.

Об авторах

- **Полина Андреевна Хромова** – м. н. с. Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека. +79041455222, polina.and38@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>.
- **Вячеслав Владимирович Синьков** – к. м. н., с. н. с. Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека». +79025698481, vsinkov@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>.
- **Евгений Дмитриевич Савилов** – д. м. н., профессор, г. н. с. Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека. +79148759919, savilov47@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-9217-6876>.
- **Светлана Николаевна Жданов** – д. м. н., с. н. с. Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека. +79148774415, svetnii@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>.
- **Олег Борисович Огарков** – д. м. н., заведующий отделом эпидемиологии и микробиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека. +79642255258, obogarkov@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>.

Поступила: 08.04.2020. Принята к печати: 27.05.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Polina A. Khromova** – Junior Research of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems. +79041455222, polina.and38@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>.
- **Vyacheslav V. Sinkov** – Cand. Sci. (Med.), Senior Research of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems. +79025698481, vsinkov@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>.
- **Evgeniy D. Savilov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Research Officer of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems. +79148759919, savilov47@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-9217-6876>.
- **Svetlana N. Zhdanova** – Dr. Sci. (Med.), Senior Research Officer of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems. +79148774415, svetnii@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>.
- **Oleg B. Ogarkov** – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Epidemiology and Microbiology of Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems. +79642255258, obogarkov@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>.

Received: 08.04.2020. Accepted: 27.05.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

Клещевой энцефалит в Ярославской области в условиях плановой вакцинопрофилактики

Т. А. Дружинина*, Н. Ю. Ширина

Ярославский государственный медицинский университет, г. Ярославль

Резюме

Актуальность. В Ярославской области, эндемичном по клещевому энцефалиту (КЭ) регионе (Центральный федеральный округ России), специфическая вакцинация против клещевого энцефалита в плановом порядке проводится более 20 лет. Поэтому оценка результатов многолетней массовой иммунопрофилактики населения эндемичного по клещевому энцефалиту региона представляет практический и научный интерес. **Цель:** изучение особенностей эпидемиологии клещевого энцефалита в условиях массовой плановой вакцинопрофилактики в 2008–2019 гг. **Результаты и обсуждение.** По итогам многолетней иммунизации к 2019 г. привиты 19,1% населения, при этом охват вакцинацией детского населения, проживающего на эндемичных территориях области, достигает 68–83%. В статье отмечено в 2,9 раз снижение уровня заболеваемости КЭ в 2013–2018 гг. в сравнении с 2008–2012 гг. Среднегодовой уровень составил 0,69 на 100 тыс. населения. КЭ регистрировался среди непривитого населения, преобладали легкие лихорадочные формы – 56,8%, однако высоким оставался удельный вес очаговых форм заболевания – 36,3%. Летальных исходов от КЭ в 2013–2018 гг. не было. Таким образом, в условиях отсутствия специфического лечения КЭ вакцинопрофилактика имеет большое медико-социальное значение для эндемичной по КЭ территории Ярославской области. Многолетняя вакцинопрофилактика КЭ населения Ярославской области, охват прививками детей, проживающих на эндемичных территориях области, и естественная иммунизация в природных очагах КЭ способствовали формированию значительного уровня коллективного иммунитета населения к вирусу КЭ, снижению заболеваемости в последние 5 лет.

Ключевые слова: клещевой энцефалит (КЭ), Ярославская область, эпидемиология, профилактика, вакцинация, иммунитет, заболеваемость

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Дружинина Т. А., Ширина Н. Ю. Клещевой энцефалит в Ярославской области в условиях плановой вакцинопрофилактики. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):46–51. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-46-51>.

Tick-borne Encephalitis in the Yaroslavl Region in the Context of Planned Vaccine Prevention

TA Druzhinina**, NYu Shirina

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl

Abstract

Relevance. In the Yaroslavl region, the Central Federal District of Russia, endemic for tick-borne encephalitis (TBE), specific TBE vaccination has been routinely carried out for more than 20 years. Therefore, the evaluation of the results of long-term universal immunoprophylaxis the population has a practical and scientific interest. **Purpose:** To study the epidemiology of tick-borne encephalitis in the context universal vaccine in 2008–2019. **Results and discussion.** According to the results of long-term immunization, by 2019 19.1% of the population was vaccinated, while vaccine coverage for the children living in endemic areas of the region reaches 68–83%. The article noted a 2.9-fold decrease in the incidence of TBE in 2013–2018 compared with 2008–2012. The average long-term level was 0.69 per 100 ths people. TBE was recorded among the unvaccinated population, mild febrile forms prevailed – 56.8%, however, the proportion of focal forms of the disease remained high (36.3%). Deaths from TBE in the period from 2013–2018 did not have. Thus, in the absence of specific treatment for TBE, vaccine prophylaxis is of great medical and social importance for the Yaroslavl region endemic for TBE. **Conclusion.** Vaccine coverage in the population of Yaroslavl region, children living in endemic areas and natural immunization in natural foci of TBE contributed to the formation of a significant level of collective immunity of the population to TBE, reducing the incidence of in the last 5 years.

Keywords: tick-borne encephalitis (TBE), Yaroslavl region, epidemiology, prevention, vaccination, immunity, incidence

No conflict of interest to declare.

For citation: Druzhinina TA, Shirina NYu. Tick-borne Encephalitis in the Yaroslavl Region in the Context of Planned Vaccine Prevention. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):46–51. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-46-51>.

* Для переписки: Дружинина Татьяна Александровна, д. м. н., доцент, профессор кафедры инфекционных болезней, эпидемиологии и детских инфекций Ярославского государственного медицинского университета. +7 915 992 96 61, druzhininata@gmail.com. ©Дружинина Т. А. и др.

** Druzhinina Tatyana, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases, Epidemiology and Pediatric Infections of Yaroslavl State Medical University. +7 915 992 96 61, druzhininata@gmail.com. ©Druzhinina TA et al.

Введение

Тяжелое инфекционное заболевание – клещевой энцефалит (КЭ) вызывается вирусом из семейства *Flaviviridae*, рода *Flavivirus*, входит в группу вирусов млекопитающих, переносимых клещами. На основании исследования генотипов различных штаммов ВКЭ Международным комитетом по таксономии вирусов признано существование трех подтипов (subtypes) ВКЭ: дальневосточного, европейского и сибирского [1], которые также обозначаются как генотипы № 1, 2 и 3 [2,3].

Обоснована возможность выделения генотипов № 4 и № 5, в геноме которых сочетаются последовательности как уникальные, так и трех основных генотипов ВКЭ [3,4].

На обширной территории Российской Федерации, эндемичной по КЭ, доминирует сибирский подтип ВКЭ. В настоящее время его доля достигает 95–100% в популяции ВКЭ в Западной Сибири, на Урале (Кемеровская, Курганская, Свердловская, Челябинская области) и на европейской части РФ (Ярославская, Вологодская области) [5–8].

Вирус циркулирует в природе в составе трехчленной паразитарной системы «возбудитель – клещ – позвоночное животное». Среда обитания клещей – густые лиственные леса, трава и кустарники. В Российской Федерации почти половина административных территорий (43 из 85) относятся к эндемичным по этой инфекции. Ярославская область, располагающаяся в Центральном Федеральном округе (ЦФО) России, входит в их число.

Заболеваемость КЭ в 2019 г. в Ярославской области составила 0,31 на 100 тыс. населения (в 2018 – 0,55), при этом в соседних областях она более низкая или не регистрируется (Владимирская обл.), или более чем в пять раз превышает среднюю по России (Вологодская область – 6,95 на 100 тыс. населения). В такой ситуации большое значение имеет профилактика КЭ и как наиболее ее эффективный метод – вакцинация. В Ярославской области вакцинопрофилактика проводится уже более 20 лет.

Для иммунизации населения против КЭ в России применяются главным образом отечественные культуральные инактивированные высокоочищенные вакцины, приготовленные из дальневосточных штаммов вируса КЭ вакцины: Энцевир, ЭнцевирНео (АО «НПО «Микроген»), вакцина клещевого энцефалита культуральная очищенная концентрированная сухая и Клещ-Э-Вак (ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН», а также зарубежные ФСМЕ, ФСМЕ-Джуниор (Австрия).

Для производства отечественных вакцин КЭ применяются штаммы вируса КЭ дальневосточного подтипа (генотип 1 – штаммы Софьин, № 205), для зарубежных – штаммы вируса КЭ европейского подтипа (генотип 2).

С учетом преобладания циркуляции сибирского подтипа вируса КЭ на территории РФ, применения

вакцин, изготовленных на основе 1 и 2 подтипов вируса, проведен ряд исследований, позволяющих определить эффективность иммунизации и возможность взаимозаменяемости вакцин. Так, в работе О. В. Морозовой и соавт. [9] изучались штамм сибирского подтипа Айна (AF091006), выделенный в 1963 г. от больной хроническим КЭ, и штамм 2689 (Новосибирск 2689 JQ693478), изолированный в 2010 г. от клеща. При подкожной иммунизации мышей четырьмя вакцинами индуцировались антитела различного уровня. В реакции торможения гемагглютинации (РТГА) отмечены высокие титры к штамму Айна и низкие – к штамму 2689. Из четырех испытанных вакцин наиболее выраженный защитный титр против штамма 2689 обеспечивал Энцевир, наименьший – Энцепур. Высокий защитный эффект вакцины Энцевир против сибирского подтипа ВКЭ в экспериментах на мышах при использовании штаммов Лесопарк-11 и Ек-328 описан и другими авторами [10–12].

Схемы иммунизации у вакцин против КЭ сходны, первичный вакцинальный комплекс представлен двукратной иммунизацией с интервалом в 5–7 месяцев отечественными вакцинами (оптимально – осень–зима), интервалом 1–3 месяца – зарубежными вакцинами. В дальнейшем проводится однократное введение вакцины с последующими ревакцинациями в соответствии со сроками, указанными в инструкциях к конкретным вакцинам.

В ходе иммунизации в зимне-весеннее время активно использовались экспресс-схемы введения вакцин, предусмотренные инструкциями к использованию вакцинных препаратов, в том числе вакциной Энцевир – 2 прививки с интервалом в 14 дней, и разрешение посещения очага КЭ через 2 недели после 2-й прививки [12]. Это важный нюанс, так как в настоящее время разрешена вакцинация в летний период года, т.е. в период эпидемического сезона КЭ, что открывает новые возможности по организации вакцинальных кампаний, особенно городского населения регионов, эндемичных по КЭ [13].

С учетом проведенных научных исследований в санитарно-эпидемиологических правилах «СП 3.3.2352–08. Профилактика клещевого вирусного энцефалита», утвержденных постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 07.03.2008 № 19 (ред. от 20.12.2013), в пункте 6.11 разъясняется, что при смене одного препарата на другой интервал между вакцинацией и ревакцинацией, а также между прививками при ревакцинации, должен соответствовать сроку, указанному в инструкции к препарату, которым проведена последняя прививка.

Цель работы – изучение особенностей эпидемиологии клещевого энцефалита в Ярославской области в условиях массовой плановой вакцинопрофилактики в 2008–2019 гг.

Материалы и методы

Анализировались данные эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом в условиях массовой вакцинопрофилактики, использованы отчетные материалы Управления Роспотребнадзора по Ярославской области – государственные доклады «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Ярославской области в 2008–2018», данные лабораторных исследований на КЭ лаборатории особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ярославской области»; медицинские карты стационарного больного, карты эпидемиологического обследования очагов КЭ.

Результаты и обсуждение

По данным эпидемиологического надзора за КЭ, в природных и антропоургических очагах КЭ в Ярославской области сложились благоприятные климатические и ландшафтные условия для обитания иксодовых клещей, циркуляции вирусов клещевого энцефалита.

Ярославская область располагается в северо-западной части ЦФО. Территория области делится на 5 ландшафтных зон: лесополевая зона (западная часть области); лесная зона (север области); луго-лесополевая зона; пойменно-болотная зона; ополье (крайний юг области). Природные очаги КЭ сформированы на 18 из 23 территорий Ярославской области

Наиболее активными, с наличием ежегодных случаев заражений КЭ, являются природные очаги, расположенные в лесной и пойменно-болотной зонах.

На территории региона наиболее распространены клещи рода *Ixodes*, в частности вида *I. persulcatus*. Они встречаются во всех

ландшафтно-экологических зонах, где располагаются активные природные очаги КЭ и наблюдаются ежегодные заражения людей. Этиологически заболевания клещевым энцефалитом в Ярославской области вызываются сибирским подтипом вируса [1,2].

С 2000-х гг. в России отмечается тенденция к снижению заболеваемости КЭ, она прослеживается и в Ярославской области. В 2008–2019 гг. заболеваемость КЭ колебалась в пределах от максимального показателя 3,25 на 100 тыс. населения в 2007 г., превышающего средний показатель по России в 1,5 раза, до минимального в 2019 г. – 0,31 на 100 тыс. населения. Следует отметить, что в период 2013–2019 гг. заболеваемость КЭ снизилась в 3 раза, среднескользящий показатель составил 0,63 на 100 тыс. населения, в то время как в 2006–2012 гг. составлял 1,94 на 100 тыс. населения (рис. 1).

Периодические подъемы и спады заболеваемости КЭ, наблюдаемые в динамике эпидемического процесса, обусловлены прежде всего климатическими особенностями, которые способствуют или препятствуют интенсивному размножению клещей, инфицированности их вирусом клещевого энцефалита, регулируют время их активности. Вместе с тем существенное влияние оказывают и социальные факторы, в частности реализация алиментарного пути передачи инфекции, реализуемого через козье молоко, формирование антропоургических очагов в городах в результате хозяйственной деятельности населения области [1].

По результатам, проводимых в лаборатории особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ярославской области» исследований клещей, снятых с людей, установлена зараженность клещей не только вирусом КЭ, но

Рисунок 1. Динамика заболеваемости клещевым энцефалитом в РФ и Ярославской области
Figure 1. The dynamics of the incidence of tick-borne encephalitis in the Russian Federation and the Yaroslavl region



и возбудителями боррелиоза, эрлихиоза, анаплазмоза. В 2011–2012 гг. при использовании метода ИФА она составила соответственно 2, 29 и 2,11%, при переходе на метод ПЦР с 2013 г. значительно снизилась и в 2018 г. – 0,4% (табл. 1)

Следует отметить, случаи заболеваний КЭ регистрируются среди непривитого населения, проживающего в стойких природных очагах КЭ. В 2013–2019 гг. клинически в большей части это лихорадочные формы заболевания – 56,8%, инанарантные – 6,8%, менингеальные – 4,5%, менингоэнцефалитические формы КЭ – 31,8%. Летальных исходов от КЭ в этот период не было.

Ландшафтными зонами, где ежегодно регистрируются заражения КЭ, остаются лесная и пойменно-болотная зоны, включающие города с наиболее высокой численностью населения – Ярославль, Рыбинск с прилегающими к ним сельскими районами. На активность эпидемического процесса оказывают существенное влияние социальные факторы: интенсивное жилищное строительство в пригородных сельских районах, являющихся природными очагами клещевых трансмиссивных инфекций, «автомобилизация» населения, популярность дачного отдыха горожан.

В Ярославской области в рамках надзора за распространенностью КЭ осуществлялся мониторинг наличия иммунитета среди непривитого взрослого населения, проживающего на эндемичной территории. По результатам лабораторных исследований, проведенных в 2017–2019 гг. вирусологической лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ярославской области» удельный вес серопозитивных составил соответственно 22%, 6%, 7,1%. Это свидетельствует об интенсивном естественном процессе проэпидемичивания (естественной иммунизации) лиц, проживающих на эндемичной территории в активных природных очагах КЭ. Вместе с тем большинство населения, в том числе

дети остаются незащищенным от этой тяжелой инфекции.

Наиболее эффективным и доступным методом профилактики КЭ в Ярославской области уже более 20 лет является вакцинопрофилактика. По итогам многолетней иммунизации, к 2019 г. привито 19,1% населения, охват прививками детского населения, проживающего на эндемичных территориях области, достигает 68–83%. Однако следует отметить, что в 2017–2018 гг. число вакцинированных от КЭ резко снизилось (рис. 2).

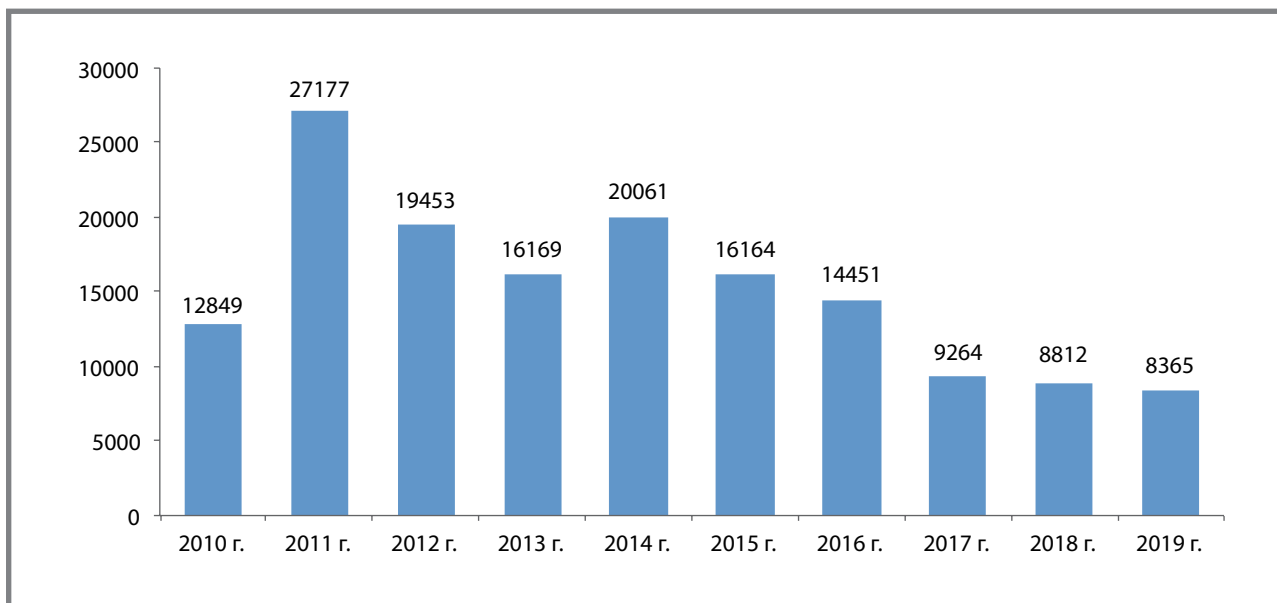
Контингент, подлежащий иммунизации против КЭ, – лица, проживающие на эндемичных по КЭ территориях Ярославской области и выезжающие в другие эндемичные регионы. В первую очередь в области прививались дети до 14 лет, выезжающие в летние оздоровительные учреждения, стационарные и палаточные лагеря, взрослые, относящиеся к профессиональным группам риска. Следует отметить, что за рассматриваемый период случаи КЭ регистрировались только у непривитых детей и взрослых.

В Ярославской области на протяжении длительного времени использовались вакцины, зарегистрированные в России: ЭнцеВир, ЭнцеВир Нео (АО «НПО Микроген»), вакцина клещевого энцефалита культуральная очищенная концентрированная сухая и Клещ-Э-Вак (ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН»), ФСМЕ, ФСМЕ-Джуниор (Австрия). На фоне циркуляции в области сибирского подтипа вируса КЭ в последние 5 лет для иммунизации населения использовались преимущественно отечественные вакцины. Следует отметить: при использовании различных комбинаций вакцин первичный вакцинальный комплекс осуществлялся, как правило, одним видом вакцины с последующей ревакцинацией другим вакцинным препаратом. Тяжелых и необычных реакций на введение вакцин против КЭ в области не отмечалось.

Таблица 1. Динамика заражения клещей вирусом клещевого энцефалита в 2011–2019 годах
Table 1. The dynamics infection with tick-borne encephalitis virus of ticks in 2011–2019

Год Year	Исследовано клещей, снятых с людей Researched ticks taken from people	Выявлено клещей, зараженных КВЭ Identified ticks infected with TBE		Выявлено клещей, зараженных боррелиями Identified ticks infected with Borrelia		Выявлено клещей, зараженных эрлихиями Identified ticks infected with ehrlichia		Выявлено клещей, зараженных анаплазмами Identified ticks infected with anaplasmas	
		Всего Total	%	Всего Total	%	Всего Total	%	Всего Total	%
2011	3272	75	2,29	1096	33,50	23	0,70	2	0,06
2012	15737	336	2,14	5235	33,27	243	1,54	19	0,12
2013	5636	68	1,21	1398	24,80	157	2,79	26	0,46
2014	8881	84	0,95	2080	23,42	283	3,19	22	0,25
2015	14880	88	0,59	3863	25,96	377	2,53	21	0,14
2016	10339	71	0,68	2546	24,62	305	2,90	53	0,50
2017	10750	53	0,5	3559	33,50	575	5,30	45	0,41
2018	13303	51	0,4	4312	32,40	480	3,70	47	0,37
2019	13367	28	0,2	4358	32,60	455	3,40	85	0,60

Рисунок 2. Динамика охвата вакцинацией против клещевого энцефалита в Ярославской области
Figure 2. Dynamics of tick-borne encephalitis vaccine coverage in the Yaroslavl region



Выводы

1. В условиях отсутствия специфического лечения КЭ вакцинопрофилактика имеет большое медико-социальное значение для эндемичной по КЭ территории Ярославской области.
2. Высокий уровень охвата прививками против КЭ в Ярославской области на протяжении 10 лет естественная иммунизация в природных очагах КЭ способствовали формированию коллективного иммунитета населения к вирусу КЭ, снижению заболеваемости в последние 6 лет.
3. Подбор вакцин для проведения массовой вакцинальной кампании необходимо приоритизировать в сторону препаратов, обладающих максимальной перекрёстной активностью по отношению ко всем трем генетическим типам штаммов, циркулирующих в природе (в т.ч. при проведении курса вакцинации по трехкратной и двукратной (экстренной) схеме).
4. Результаты эпидемиологического надзора свидетельствуют о безопасности и эпидемиологической эффективности вакцин для профилактики КЭ.

Литература

1. Heinz FX, Collet MS, Purcell RH et al. Family Flaviviridae. Taxonomic structure of family. In: Virus taxonomy. 7th Intern. Committee for the taxonomy of viruses. San Diego: Academic Press; 2000:859–878.
2. Вотьяков В. И., Злобин В. И., Мишаева Н. П. Клещевые энцефалиты Евразии. Новосибирск: Наука; 2002:438.
3. Злобин В. И., Верхозина М. М., Демина Т. В. и др. Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита. Вопросы вирусологии. 2007;6:4–13.
4. Козлова И. В., Верхозина М. М., Демина Т. В. и др. Комплексная характеристика оригинальной группы штаммов вируса клещевого энцефалита, изолированных на территории Восточной Сибири. Сибирский мед. журнал. 2012;4:80–85.
5. Погодина В. В., Карань Л. С., Колясникова Н. М. и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя. Вопросы вирусологии. 2007;5:16–20.
6. Герасимов С. Г., Дружинина Т. А., Карань Л. С. и др. Особенности клещевого энцефалита в Ярославской области на современном этапе. Проблема эволюции инфекции. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2014;4:37–44.
7. Дружинина Т. А. Эколого-эпидемиологическая характеристика и профилактика трансмиссивных клещевых инфекций (по материалам Ярославской области): Дисс. М.; 2005.
8. Дружинина Т. А., Баранова Н. С. Клещевой вирусный энцефалит в Ярославской области: особенности эпидемиологии, клиники, профилактики Сибирский медицинский журнал. 2012;4:85–88
9. Морозова О. В., Бахвалова В. Н., Потапова О. Ф. и др. Анализ соответствия четырех вакцинных штаммов современным изолятам вируса клещевого энцефалита сибирского подтипа. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2012; 5 (66): 67–75.
10. Афонина О. С., Терехина Л. Л., Бархалева О. А. и др. Экспериментальное изучение перекрестного иммунного ответа на антигены штаммов вируса клещевого энцефалита разных генотипов у мышей BALB/c, иммунизированных различными вариантами вакцины клещевого энцефалита. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2014;5(78):88–96.
11. Афонина О. С., Бархалева О. А., Саркисян К. А. и др. Изучение протективных свойств вакцин против вирулентных штаммов вируса клещевого энцефалита трех генотипов: европейского, дальневосточного и сибирского (экспериментальные исследования). Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2017;1(92):62–67.
12. Шутова Н. А., Шкуратова О. В., Рузавина Е. В., и др. Изучение иммунологической активности и реактогенности вакцины «Энцевир» при иммунизации взрослых по экспресс-схеме». // Сибирский медицинский журнал. Томск. 2009;24(2–2):30–33.
13. Козлова Т. Ю., Хантиминова Л. М., Рукавишников А. В., и др. Анализ эффективности и безопасности вакцин для профилактики клещевого энцефалита. // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2018, Т. 18, № 1 с. 33–40.

References

1. Heinz FX, Collet MS, Purcell RH, et al. Family Flaviviridae. Taxonomic structure of family. In: Virus taxonomy. 7th Intern. Committee for the taxonomy of viruses. San Diego: Academic Press; 2000:859–878.
2. Votyakov VI, Zlobin VI, Mishaeva NP. Tick-borne encephalitis of Eurasia. Novosibirsk. Science; 2002:438.
3. Zlobin VI, Verkhovina MM, Demina TV, et al. Molecular epidemiology of tick-borne encephalitis. Problems of Virology. 2007;6:4–13.
4. Kozlova IV, Verkhovina MM, Demina TV, et al. Comprehensive description of the original group of tick-borne encephalitis virus strains isolated on the territory of Eastern Siberia. Siberian Medical Journal. 2012;4:80–85.

5. Pogodina VV, Karan LS, Kolyasnikova NM, et al. Evolution of tick-borne encephalitis and the problem of evolution of the pathogen. *Problems of Virology*. 2007;5:16–20.
6. Gerasimov SG, Druzhinina TA, Karan LS, et al. Features of tick-borne encephalitis in the Yaroslavl region at the present stage. The problem of the evolution of infection. *Epidemiology and infectious diseases*. 2014;4:37–44.
7. Druzhinina TA. Ecological and epidemiological characteristics and prevention of transmissible tick-borne infections (based on materials from the Yaroslavl region): Diss. Moscow; 2005.
8. Druzhinina T. A., Baranova N. S. Tick-borne viral encephalitis in the Yaroslavl region: features of epidemiology, clinic, prevention. *Siberian Medical Journal*. 2012;4:85–88.
9. Morozova OV, Bakhvalova VN, Potapova OF, et al. Analysis of the correspondence of four vaccine strains to modern isolates of tick-borne encephalitis virus of the Siberian subtype. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2012;5(66):67–75.
10. Afonina OS, Terekhina LL, Barakhleva OA, et al. An experimental study of the cross-immune response to antigens of tick-borne encephalitis virus strains of different genotypes in BALB/c mice immunized with various tick-borne encephalitis vaccines. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2014;5(78):88–96.
11. Afonina OS, Barkhaleva OA, Sarkisyan KA, et al. Study of the protective properties of vaccines against virulent strains of tick-borne encephalitis virus of three genotypes: European, Far Eastern and Siberian (experimental studies). *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2017;1(92):62–67.
12. Shutova NA, Shkuratova OV, Ruzavina EV, et al. Study of the immunological activity and reactogenicity of the Encevir vaccine during immunization of adults according to the express schedule. *Siberian Medical Journal*. Tomsk. 2009; 24(2–2):30–33.
13. Kozlova TYu, Khantimirova LM, Rukavishnikov AV, et al. Analysis of the efficacy and safety of vaccines for the prevention of tick-borne encephalitis. // *Biological products. Prevention, diagnosis, treatment*. 2018;18(1):33–40.

Об авторах

- **Татьяна Александровна Дружинина** – д. м. н., доцент, профессор кафедры инфекционных болезней, эпидемиологии и детских инфекций Ярославского государственного медицинского университета. +7 915 992 96 61, druzhininata@gmail.com.
- **Наталья Юрьевна Ширина** – к. т. н., доцент кафедры медицинской физики с курсом медицинской информатики Ярославского государственного медицинского университета. Shirina-natasha@mail.ru.

Поступила: 15.04.2020. Принята к печати: 25.05.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Tatyana A. Druzhinina** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases, Epidemiology and Pediatric Infections at Yaroslavl State Medical University. +7 915 992 96 61 druzhininata@gmail.com/
- **Natalya Yu. Shirina** – Cand. Sci. (Tech.), Assistant Professor of the Department of Medical Physics with a Course in Medical Informatics at Yaroslavl State Medical University. Shirina-natasha@mail.ru.

Received: 15.04.2020. Accepted: 25.05.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

ИНФОРМАЦИЯ ВОЗ

Объявление об окончании десятой вспышки лихорадки Эбола в Демократической Республике Конго: требуются неослабный контроль за возможными эпизодами передачи инфекции и поддержка выздоровевших пациентов

Сегодня в Демократической Республике Конго (ДРК) закончилась десятая вспышка болезни, вызванной вирусом Эбола. Эта долгая, тяжелая и сложная вспышка была преодолена благодаря активным и решительным действиям Правительства ДРК при поддержке ВОЗ, широкого круга партнеров и доноров и не в последнюю очередь благодаря усилиям затронутых распространением вируса местных общин.

Поздравляя всех, кто выполнял тяжелую и нередко опасную работу, необходимую для ликвидации вспышки, ВОЗ, тем не менее, предупреждает о необходимости сохранять бдительность. В предстоящие месяцы крайне важно продолжать оказывать помощь выздоровевшим пациентам и обеспечивать стабильную работу систем эпиднадзора и реагирования для локализации возможных эпизодов передачи инфекции.

«Вспышка дорого обошлась всем нам, особенно народу ДРК, но мы извлекли из нее важные уроки и выработали ценные подходы. Теперь мир лучше подготовлен к борьбе с Эболой. Была зарегистрирована вакцина и определены эффективные схемы лечения», – отметил Генеральный директор Всемирной организации здравоохранения д-р Тедрос Адханом Гебрейесус.

«Мы должны с радостью отметить это событие, но не впадать в самоуспокоенность. Вирусы не объявляют перемирия. В конечном счете самой лучшей защитой от любой вспышки являются инвестиции в укрепление системы здравоохранения как основы всеобщего охвата услугами здравоохранения», – заявил он.

Эта вспышка, объявленная в провинции Северное Киву 1 августа 2018 г., стала второй в мире крупнейшей вспышкой лихорадки Эбола и дополнительно осложнялась тем, что происходила в зоне активного вооруженного конфликта. В ходе вспышки было инфицировано 3470 человек, 2287 человек скончались.

Организованная Правительством ДРК и поддержанная ВОЗ и ее партнерами операция по реагированию на вспышку продолжалась более 22 месяцев, в течение которых были обучены тысячи работников здравоохранения, зарегистрировано 250 000 контактных лиц, исследовано 220 000 образцов биоматериала, обеспечен равноправный доступ пациентов к самым современным средствам лечения, привито высокоэффективной вакциной rVSV-ZEBOV-GP более 305 000 человек и налажено оказание помощи всем выздоровевшим от болезни пациентам.

Успеху борьбы со вспышкой способствовали участие и активная роль затронутых инфекцией общин. Их усилия позволили не допустить глобального распространения вспышки. Более 1500 специалистов, направленных ВОЗ, трудились бок о бок с более чем 16 000 местных сотрудников служб реагирования первичного звена. Немаловажную роль сыграла поддержка со стороны спонсоров, а также вклад партнерских учреждений

ООН, национальных и международных НПО, научно-исследовательских сетей и партнеров, привлеченных к операции через Глобальную сеть предупреждений о вспышках болезней и ответных действий. Напряженные усилия по повышению готовности в соседних странах также помогли ограничить риск разрастания вспышки.

Потенциал, накопленный в ходе операции по реагированию, будет задействован в ходе дальнейшей работы по решению других проблем здравоохранения, включая распространение кори и COVID-19.

«В течение почти двух лет нашей борьбы с вирусом Эбола ВОЗ и ее партнеры содействовали укреплению потенциала местных органов здравоохранения в области противодействия вспышкам», – отметила Директор Регионального бюро для стран Африки д-р Матшидисо Моэти.

«Теперь ДРК способна более действенно, продуманно и быстро реагировать на Эболу, а созданный долгосрочный потенциал помогает бороться с COVID-19 и вспышками других болезней», – уверена она.

Вспышка Эбола в ДРК является ценным уроком для стран мира, столкнувшихся с пандемией COVID-19. Многие из успешных мер общественного здравоохранения по сдерживанию Эболы – выявление, изоляция, тестирование и ведение каждого пациента и непрерывное отслеживание контактов – теперь имеют важнейшее значение для сдерживания COVID-19.

Хотя десятая вспышка закончилась, ДРК продолжает вести борьбу с Эболой. Первого июня 2020 г. в городе Мбандака и прилегающей к нему медико-санитарной зоне Бикоро в Экваториальной провинции было зарегистрировано семь случаев заболевания лихорадкой Эбола, в связи с чем было объявлено о начале одиннадцатой вспышки. ВОЗ поддерживает усилия государства по противодействию этой вспышке и уже направила в этот район более 50 сотрудников и обеспечила вакцинацию более 5000 человек.

ВОЗ приветствует героические усилия тысяч участников операции по борьбе с одним из самых опасных в мире вирусов в одном из самых нестабильных регионов планеты. Ряд работников здравоохранения, включая сотрудников ВОЗ, заплатили за это самую высокую цену, пожертвовав ради победы над Эболой своей жизнью.

Источник: <https://www.who.int/news-room/detail/25-06-2020-10th-ebola-outbreak-in-the-democratic-republic-of-the-congo-declared-over-vigilance-against-flare-ups-and-support-for-survivors-must-continue>

Инфекции области хирургического вмешательства в кардиохирургии. Результаты собственных исследований

Е. Р. Цой*¹, Л. П. Зуева², С. М. Микаелян¹, М. Б. Тайц²

¹ГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург

²ГББОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Резюме

Актуальность. Кардиохирургия – активно развивающееся направление в медицине. Ежегодно растет количество операций, выполненных на открытом сердце, а также частота послеоперационных осложнений, в том числе и инфекционного генеза. **Цель работы** – выявить частоту инфекций области хирургического вмешательства (ИОХВ) при операциях на открытом сердце, изучить ведущие факторы риска. **Материалы и методы.** Основная информация была получена из медицинских карт, а также с помощью медицинской информационной системы, которая позволяет отслеживать повторные госпитализации пациента в стационар. Были разработаны дополнительные формы по учету интраоперационных факторов риска. Период наблюдения составил 3 года (2016–2018 гг.). Всего проанализировано 433 оперативных вмешательства и их исходов, длительность наблюдения за пациентами составила один год с момента проведения операции. Выявлено 19 случаев ИОХВ. **Результаты и обсуждение.** Частота ИОХВ при операциях на открытом сердце составила 4,4 на 100 операций (2,6–6,7). До 74% всех ИОХВ возникло в период до 30 суток с момента операции. Рассчитан показатель относительного риска для таких факторов, как длительность пребывания в отделении реанимации в послеоперационном периоде, сроки дренирования послеоперационной раны, наличие у пациента сахарного диабета. Установлено, что для кардиохирургических операций 1-го класса операционной раны сахарный диабет является значимым фактором риска ИОХВ. **Выводы.** Для проведения глубокого эпидемиологического расследования каждого случая инфекционного послеоперационного осложнения, разработки и внедрения противоэпидемических мероприятий необходим полный учет возможных факторов риска, заинтересованность и участие кардиохирургов в выявлении и анализе каждого случая ИОХВ, наличие информации об исходе оперативного вмешательства, что подразумевает взаимодействие стационарных и амбулаторно-поликлинических медицинских организаций, которые принимают участие в ведении кардиохирургического пациента в послеоперационном периоде.

Ключевые слова: инфекции в кардиохирургии, послеоперационные инфекционные осложнения, открытое сердце
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Цой Е. Р., Зуева Л. П., Микаелян С. М. и др. Инфекции области хирургического вмешательства в кардиохирургии. Результаты собственных исследований. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):52–56. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-52-56>

Surgical Site Infections in Cardiac Surgery, Open-Heart Surgery Infections

ER Tsoy**¹, LP Zueva², SM Mikaelyan¹, BM Taits²

¹City Mariinsky Hospital, St. Petersburg, Russian Federation

²North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract

Relevance. Cardiac surgery is a direction that is currently being actively developed. The number of operations performed on an open-heart is growing annually, and the number of postoperative complications, including infectious ones, is correspondingly increasing. The purpose of the work is to identify the frequency of surgical site infections (SSI) in open-heart surgery, to study the leading risk factors, to identify possible sources of infection. **Materials and methods.** Basic information was obtained from medical records, as well as using the medical information system, which allows to track the patient's repeated hospitalization in the hospital, and the laboratory information system. Additional forms have been developed to account for intraoperative risk factors. The follow-up period was 3 years (2016–2018). A total of 433 surgical interventions and their outcomes were analyzed, the duration of follow-up for patients was 1 year from the time of surgery. Identified 19 cases of SSI. **Results and discussion.** The frequency of SSI in open-

* Для переписки: Цой Екатерина Родионовна, врач-эпидемиолог Городской Мариинской больницы, 191194, Санкт-Петербург, Литейный проспект, 56. +7(812)2757460, e-781978@mail.ru. ©Цой Е. Р. и др.

** For correspondence: Tsoy Ekaterina Rodionovna, epidemiologist at City Mariinsky Hospital, 56 Liteyny prospert, 191104, St. Petersburg, Russia. +7(812)2757460, e-781978@mail.ru. © Tsoy ER et al.

heart surgery was 4.4 per 100 operations (2.6–6.7). Up to 74% of all SSI occurred in the period up to 30 days from the moment of surgery. The relative risk index was calculated for such factors as the length of stay in the intensive care unit in the postoperative period, the timing of drainage of the postoperative wound, and diabetes mellitus. It has been established that for cardiac surgical operations on the 1st class of wounds, diabetes mellitus is a significant risk factor for SSI. The analysis pathogens in patients with acute respiratory infections and the microbiological landscape of the departments made it possible to establish cases of possible infection of patients in the hospital, and in some cases put forward an assumption of endogenous infection. **Conclusions.** An epidemiological investigation, the development, and implementation of anti-epidemic measures require a complete consideration of possible risk factors, the participation of cardiac surgeons in identifying, and analyzing each case of SSI, and the mandatory exchange of information about the outcome of the disease between medical organizations that are involved in the management of a cardiac surgical patient in the postoperative period.

Keywords: surgical site infections in cardiac surgery, open-heart surgery infections
No conflict of interest to declare.

For citation: Tsoy ER, Zueva LP, Mikaelyan SM, et al. Surgical Site Infections in Cardiac Surgery, Open-Heart Surgery Infections. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):52–56. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-52-56>.

Введение

С каждым годом увеличивается количество оперативных вмешательств, выполняемых на открытом сердце [1]. Внедряются новые технологии в кардиохирургии, используются современные методики элиминации стерильной инфекции [2–4], и тем не менее проблема инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ) остаётся крайне актуальной [5,6]. Проводятся исследования возможных факторов риска и степень их влияния на частоту возникновения ИОХВ [7,8]. По данным литературы, частота возникновения инфекционных осложнений хирургической раны варьирует от 0,4 до 5,0% [8,10], по другим источникам, она достигает 25% [1,3].

Цель исследования – выявить частоту возникновения инфекций области хирургического вмешательства после операций на открытом сердце при 1 классе операционной раны и определить факторы риска развития инфекционных осложнений хирургической раны у пациентов кардиохирургического профиля.

Материалы и методы

Проведён ретроспективный анализ историй болезни пациентов, оперированных на открытом сердце. В исследование были включены следующие типы операций, выполняемых на работающем открытом сердце или в условиях частичного или полного искусственного кровообращения: аортокоронарное и/или маммарокоронарное шунтирование, протезирование клапанного аппарата. Обязательным критерием отбора для данного исследования являлся первый класс раны. К данному классу относятся операционные раны: неинфицированная послеоперационная рана при отсутствии воспаления и при этом не затронуты дыхательный, пищеварительный, половой или неинфицированный мочевыводящий тракты. Чистые раны закрываются первичным натяжением и в случае необходимости дренируются с помощью закрытого дренажа. Общее количество наблюдений составило

433 оперативных вмешательства с января 2016 г. по декабрь 2018 г. Возраст пациентов на момент операции варьировал от 30 до 86 лет, медианное значение составило 65 лет (58–71). Медиана возраста пациентов с ИОХВ – 67 лет (62–71), причём минимальный возраст – 38 лет, а максимальный – 79 лет. Изучение исходов операций продолжалось ещё один год после операции. Для получения данных использовались медицинские карты пациентов (как на бумажном носителе, так и сведения из электронной истории болезни, позволяющей выявлять повторные госпитализации пациента в стационар). Были разработаны дополнительные анкеты для наблюдения за интраоперационными факторами риска.

Для оценки статистической значимости полученных результатов рассчитывали 95% доверительные интервалы и уровень значимости (p). Результаты считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$ и при верхней границе доверительного интервала не выше 1. Для оценки относительного эффекта воздействия в когортных исследованиях использовался показатель относительного риска (RR) с расчетом его доверительных интервалов,

Результаты и обсуждение

В отделении кардиохирургии выполняется определённый порядок подготовки пациента к операции. Всем пациентам проводится перед операцией обработка слизистых носа и полости рта 0,5% водным раствором хлоргексидина. Периоперационная антибиотикопрофилактика (ПАП) осуществляется в 100% оперативных вмешательствах, но не всегда вводимый антибактериальный препарат (АБП) соответствовал протоколу, утверждённому для стационара. В современной периодической литературе можно найти информацию о том, что для ПАП в кардиохирургии АБП назначаются и местно [3,4,10]. Кроме того, при использовании аппарата искусственного кровообращения, при его подключении вводится ещё одна доза АБП. В утверждённом протоколе стационара по ПАП нет

местного применения АБП при операциях на открытом сердце.

Всего было выявлено 19 случаев инфекционных осложнений хирургической раны. Инцидентность ИОХВ составила 4,4 на 100 операций (2,6–6,7). Распределение случаев ИОХВ в зависимости от вида оперативного пособия представлено в таблице 1.

Достоверной разницы в частоте возникновения ИОХВ в зависимости от типа оперативного вмешательства установить не удалось, что может быть связано с малой выборкой по каждому типу операции.

Среди оперированных пациентов 67% составили мужчины и 33% женщины. Несмотря на то, что частота возникновения ИОХВ по гендерному признаку у женщин практически в 2 раза выше, чем у мужчин, достоверных различий в показателях инцидентности ИОХВ в зависимости от пола нет, так как границы доверительных интервалов пересекаются: частота ИОХВ у женщин составила 6,3 на 100 операций (2,9–11,6), у мужчин – 3,4 на 100 операций (1,7–6,2).

Самое раннее клиническое проявление ИОХВ было отмечено на 5-е сутки после операции и самое позднее (инфекционный эндокардит) – на 120-е сутки. Медиана срока возникновения ИОХВ у пациентов кардиохирургического профиля

составила 18 дней (15–33,5). В 74% ИОХВ (14 случаев послеоперационных осложнений) возникли в период до 30 суток, остальные 26% (5 случаев послеоперационных осложнений) – не позднее четырех месяцев с момента операции. Эти результаты подтверждают имеющиеся литературные данные [4,8]. Распределение по срокам возникновения ИОХВ после операции представлены в таблице 2.

Несмотря на то, что средний койко-день у пациентов кардиохирургического профиля равняется 14,8 (медиана 14 (11–17)), у 43% пациентов сроки госпитализации были значительно выше (до 36 суток у пациентов без ИОХВ и до 38 суток в случаях с ИОХВ), таким образом, 8 случаев инфицирования хирургической раны были выявлены во время нахождения пациента в стационаре.

В 88 случаях при проведении операции потребовалась установка импланта, количество ИОХВ в этой группе пациентов – 4 случая. 3 случая были выявлены в период настоящей госпитализации (поверхностная ИОХВ, глубокая и инфекция полости – по 1 случаю) и 1 случай на 28-е сутки после операции (медиастенит). Инфекции непосредственно в области импланта (инфекционный эндокардит) за период наблюдения (1 год после операции) не установлено. Рассчитан относительный риск возникновения ИОХВ для пациентов с установленными имплантами 1,0 (0,3–3,0).

Таблица 1. Распределение случаев ИОХВ по видам оперативного пособия, 2016–2018 гг.
Table 1. Distribution of cases of surgical site infections (SSI) by types of operations, 2016–2018

Оперативное пособие Operation	Общее количество операций данного вида The total number of operations of this type	ИОХВ, абс. число SSI, abs.	ИОХВ, на 100 операций SSI, for 100 operations	Доверительный интервал Confidence Interval
Операции на открытом работающем сердце Open-heart surgery	134	5	3,7	1,2-8,5
Операции на открытом сердце в условиях полного или частичного искусственного кровообращения Open-heart surgery in the presence of full or partial cardiopulmonary bypass	299	14	4,7	2,6-7,7
В том числе: Including:				
Коронарное шунтирование Coronary artery bypass grafting	209	10	4,8	2,3-8,6
Операции на клапанном аппарате сердца Operations on the valvular apparatus of the heart	55	2	3,6	0,4-12,5
Коронарное шунтирование и операции на клапанном аппарате сердца Coronary artery bypass grafting and heart valve surgery	35	2	5,7	0,7-19,1
Общее количество наблюдений Total number of observations	433	19	4,4	2,7-6,8

Таблица 2. Распределение по срокам возникновения ИОХВ

Table 2. Distribution by time of occurrence SSI

Сроки возникновения ИОХВ Time of occurrence SSI	ИОХВ SSI				
	Общее количество Total amount		В том числе Including		
	Абс. число abs.	%	Поверхностная Superficial	Глубокая Deep	Полости/органа Cavity/ Organ
До 30 суток Up to 30 days	14	74	4	7	3
31 сут. – 6 мес. 31 days – 6 months	5	26	–	3	2
6 мес. – 12 мес. 6 months – 12 months	–	–	–	–	–
Итого Total	19	100	4	10	5

Удаление дренажей в 89% случаях выполнялось в течение первых суток после операции, в 10% – на вторые и третьи сутки в условиях кардиореанимации. В остальных случаях удаление проводилось в условиях перевязочного кабинета отделения на 3, 4, 11-е сутки после операции. Относительный риск возникновения ИОХВ при длительности стояния дренажей более 2-х суток составил 1,0 (0,2–4,1)

Все пациенты в послеоперационном периоде находились в реанимации (в среднем 2,1 день – медиана 1 день). Рассчитана частота возникновения ИОХВ в зависимости от длительности пребывания в условиях реанимации, достоверной разницы не выявлено (табл. 3). Относительный риск возникновения ИОХВ для тех пациентов, которые пробыли в кардиореанимации более 2-х суток, составил 1,9 (0,7–4,6).

Одним из факторов риска развития ИОХВ является сахарный диабет. Инцидентность ИОХВ при наличии сахарного диабета составила 10,2 на 100 операций (5,0–18,0), у пациентов без сахарного диабета – 2,7 на 100 операций (1,24–5,0). Относительный риск равен 3,8 (1,6–9,1), что подтверждает значимость данного фактора для пациентов кардиохирургического профиля.

Операции на открытом сердце могут проходить без подключения аппарата искусственного

кровообращения или при подключении. Ранее были представлены показатели частоты ИОХВ в зависимости от того, проводится операция на работающем сердце или нет, достоверной разницы не установлено. Относительный риск использования аппарата искусственного кровообращения как фактора риска возникновения ИОХВ составил 1,7 (0,6–5,0).

Участие нескольких медицинских организаций в ведении пациента в послеоперационном периоде (специализированные стационары, осуществляющие реабилитационное лечение; амбулаторно-поликлинические медицинские организации) и отсутствие обмена информацией по каждому случаю ИОХВ, а также сокрытие информации об инфекционном осложнении непосредственно самими кардиохирургами, представляют значительную проблему для госпитальных эпидемиологов и других специалистов по инфекционному контролю. Отсутствие информации об исходе оперативного вмешательства создает ложное представление о благополучной эпидемиологической ситуации в стационаре, уменьшает значимость эпидемиологической диагностики, не дает возможность выявить риск-ориентированные манипуляции и соответственно разработать и провести

Таблица 3. Частота возникновения ИОХВ в зависимости от длительности пребывания в условиях реанимации

Table 3. The frequency of occurrence of the SSI, depending on the length of stay in the intensive care unit

Длительность пребывания в ОРИТ Duration of stay in the ICU	Кол-во пациентов Number of patients	Количество ИОХВ Number of SSI	Частота ИОХВ на 100 операций по данному признаку Frequency of IOCC per 100 operations on this basis	Доверительный интервал Confidence interval
До 24 час. Up to 24 h.	225	7	3,1	1,3-6,3
25–48 час. 25–48 h.	142	7	4,9	2,0-9,9
49–72 час. 49–72 h.	22	2	9,9	1,1–29,2
Более 73 час. More than 73 h.	44	3	6,8	1,4–18,7

своевременные и адекватные противозидемические мероприятия.

Заклучение

Согласно полученным данным, минимальная частота ИОХВ у пациентов кардиохирургического профиля при 1-м классе операционной раны составляет 4,4 на 100 операций (2,6–6,7). Подтвержденным фактором риска является наличие сахарного диабета: относительный риск составил 3,8 (1,6–9,1).

Для проведения эпидемиологического расследования, разработки и внедрения противозидемических мероприятий требуется полный учет возможных факторов риска, участие кардиохирургов в выявлении и анализе каждого случая ИОХВ [1] и обязательный обмен информацией (например, создание единой базы данных по пациентам или по выполненным оперативным вмешательствам) об исходе заболевания между медицинскими организациями, которые принимают участие в ведении кардиохирургического пациента в послеоперационном периоде.

Литература

1. Арефьева Л. И., Горская Е. М., Савостьянова О. А. и др. Инфекционные осложнения бактериальной природы в сердечно-сосудистой хирургии // *Российский медицинский журнал*. 2013; № 3. С. 36–42.
2. Хубулава Г. Г., Шихвердиев Н. Н., Фогт П. Р. и др. Результаты применения методики элиминации стеральной инфекции у кардиохирургических пациентов // *Вестник хирургии*. 2015; Т. 174 № 5. С. 57–60.
3. Шихвердиев Н. Н., Хубулава Г. Г., Марченко С. П. и др. Интраоперационное применение антибиотиков для профилактики стеральной инфекции в кардиохирургии // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2017; 21(1). С. 69–72.
4. Кузнецов М. С., Козлов Б. Н., Насрашвили Д. С. и др. Сравнительный анализ результатов применения методик элиминации стеральной инфекции в кардиохирургии // *Журнал имени академика Б.В. Петровского*. 2016; № 2. С. 51–59.
5. Чернявский А.М., Таркова А.Р., Рuzматов Т.М. и др. Инфекции в кардиохирургии // *Хирургия*. 2016; № 5. С. 64–68
6. Бокерия Л. А., Белобородова Н. В. Инфекции в кардиохирургии. // *НЦССХ им. А. Н. Бакулева*. М, 2007. 582 с.
7. Хубулава Г. Г., Шихвердиев Н. Н., Фогт П. Р. и др. Прогнозирование вероятности развития стеральной инфекции у кардиохирургических пациентов. // *Вопросы общей и частной хирургии*. 2018; Т. 177, № 1. С. 11–15.
8. Хубулава Г. Г., Шихвердиев Н. Н., Наумов А. Б. и др. Патопфизиологические механизмы и факторы риска развития стеральной инфекции в кардиохирургии // *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2013; 1(41). С. 174–179.
9. Богомолова Н. С., Кузнецова С. М., Большаков Л. В. Роль микробиологического мониторинга и лекарственного анамнеза в эффективности антибиотикопрофилактики и антибиотикотерапии инфекционных осложнений после реконструктивных оперативных вмешательств. // *Анестезиология и реаниматология*. 2015; № 2. С. 20–26.
10. Сотников А. В., Мельников М. В., Эльмаджи Р. В. и др. К вопросу о профилактике медиастинита у кардиохирургических больных. // *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова*. 2015; Т. 7 № 4. С. 38–42.

References

1. Arefeva LI, Gorskaya EM, Savostyanova OA, et al. Infectious complications of a bacterial nature in cardiovascular surgery. *Russian Medical Journal*. 2013;3:36–42. (In Russ).
2. Khubulava GG, Shikhverdiyev NN, Vogt PR, et al. Results of the application of the method of elimination of sternal infection in cardiosurgical patients. *Bulletin of Surgery*. 2015;174(5):57–60. (In Russ).
3. Shikhverdiyev NN, Khubulava GG, Marchenko SP, et al. Intraoperative use of antibiotics for the prevention of sternal infection in cardiac surgery. *Circulatory pathology and cardiac surgery*. 2017;21(1):69–72. (In Russ).
4. Kuznetsov MS, Kozlov BN, Nasrashvili DS, et al. Comparative analysis of the results of the application of methods for elimination of sternal infection in cardiac surgery. *Journal named after academician B.V. Petrovsky*. 2016;2:51–59. (In Russ).
5. Chernyavsky AM, Tarkova AR, Ruzmatov TM, et al. Infections in cardiac surgery. *Surgery*. 2016;5:64–68. (In Russ).
6. Bockeria LA, Beloborodova NV. Infections in Cardiac Surgery. A. N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery. Moscow. 2007:582 p. (In Russ).
7. Khubulava GG, Shikhverdiyev NN, Vogt PR, et al. Prediction of the likelihood of developing sternal infection in cardiac patients. *Issues of general and private surgery*. 2018;177(1):11–15. (In Russ)
8. Khubulava GG, Shikhverdiyev NN, Naumov AB, et al. Pathophysiological mechanisms and risk factors for the development of sternal infection in cardiac surgery. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2013;1(41):174–179. (In Russ).
9. Bogomolova NS, Kuznetsova SM, Bolshakov LV. The role of microbiological monitoring and medical history in the effectiveness of antibiotic prophylaxis and antibiotic therapy of infectious complications after reconstructive surgery / *Anesthesiology and intensive care*. 2015;2:20–26. (In Russ).
10. Sotnikov AV, Melnikov MV, Elmadzhi RV, et al. On the prevention of mediastinitis in cardiac patients. *HERALD of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2015;7(4):38–42. (In Russ).

Об авторах

- **Екатерина Родионовна Цой** – врач-эпидемиолог Городской Мариинской больницы, 191194, Санкт-Петербург, Литейный проспект, 56. +7(812)2757460, e-781978@mail.ru.
- **Людмила Павловна Зуева** – д. м. н., профессор, заведующая кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. +7(812) 543-02-41.
- **Сирануш Микаеловна Микаелян** – врач-эпидемиолог Городской Мариинской больницы, 191104, Санкт-Петербург, Литейный проспект, 56. +7(812)275-74-60.
- **Борис Михайлович Тайц** – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой общественного здоровья и управления здравоохранением Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41.

Поступила: 04.02.2020. Принята к печати: 09.06.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Ekaterina R. Tsoy** – epidemiologist at City Mariinsky Hospital, 56 Liteyny prospect, St. Petersburg, 191104, Russia. +7(812)2757460, e-781978@mail.ru.
- **Ludmila P. Zueva** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfection at North-western State Medical University named after I. I. Mechnikov, 41 Kirochnaya str., St. Petersburg, 191015, Russia. +7(812) 543-02-41.
- **Siranush M. Mikaelyan** – epidemiologist, City Mariinsky Hospital, 56 Liteyny prospect, St. Petersburg, 191104, Russia. +7(812)275-74-60.
- **Boris M. Taitz** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department, Public Health and Health Management at North-western State Medical University named after I. I. Mechnikov, 41 Kirochnaya str., St. Petersburg, 191015, Russia. +7(812)303-50-00.

Received: 04.02.2020. Accepted: 09.06.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-57-63>

Разработка и исследование диагностической эффективности набора реагентов для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot»

С. Г. Марданлы^{1, 2}, А. С. Авдонина^{*2}¹ ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», г. Орехово-Зуево² ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск**Резюме**

Актуальность. При серологической диагностике краснухи методом иммуноферментного анализа, направленного на выявление антител класса М, возможно получение сомнительного или ложноположительного результата. В данном случае необходимо дополнительное подтверждающее исследование, которое может быть проведено методом иммунного блоттинга, позволяющим выявить антитела к отдельным антигенам вируса краснухи. На сегодняшний день в Российской Федерации отсутствует подобный набор реагентов, что делает его разработку достаточно актуальной. **Цель** – разработка отечественной тест-системы для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot».

Материалы и методы. Для получения иммуносорбента новой тест-системы использовали электрофорез нативного лизата вируса краснухи в полиакриламидном геле с целью разделения входящих в его состав белков по молекулярному весу и последующий электроперенос (блоттинг) разделенных белков на нитроцеллюлозную мембрану. Для оценки чувствительности и специфичности новой тест-системы использовали стандартные панели сывороток, содержащих и не содержащих IgM к вирусу краснухи, а также охарактеризованные методом ИФА образцы клинического материала. **Результаты и их обсуждение.** В результате проведенной работы была создана отечественная тест-система, позволяющая выявлять антитела класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга, аналитическая чувствительность и специфичность которой составили 100%, а диагностическая чувствительность и специфичность – не менее 99,61% и не менее 99,99% соответственно. Итоговая оценка диагностической эффективности составила не менее 99,5%. **Выводы.** Разработанная тест-система обладает высокими показателями аналитической и диагностической чувствительности и специфичности, а также высокой диагностической эффективностью. Она предназначена для проведения подтверждающих исследований в диагностике краснушной инфекции.

Ключевые слова: краснушная инфекция, вирус краснухи, антитела класса М, иммунный блоттинг

Конфликт интересов не заявлен.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Для цитирования: Марданлы С. Г., Авдонина А. С. Разработка и исследование диагностической эффективности набора реагентов для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot». Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):57–63. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-57-63>.

Development and Investigation of Diagnostic Efficiency of a Test Kit for the Detection of IgM-antibodies to Individual Antigens of Rubella Virus by Immunoblotting (Western Blot)

SG Mardanly^{1, 2}, AS Avdonina^{*2}¹ State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuevo, Russia² Closed Joint Stock Company «EKOlab», Elektostal, Russia**Abstract**

Relevance. During serological diagnosis of rubella by enzyme immunoassay (detecting IgM), it is possible to obtain an indefinite or false-positive result. In this case, is needed an additional confirmatory test. It can be carried out by immune blotting, which allows detecting antibodies to specific rubella antigens. To date, in the Russian Federation, there is no such kit of reagents, which makes its

* Для переписки: Александра Сергеевна Авдонина, начальник отдела перспективных разработок ЗАО «ЭКОлаб». +7(49643)3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-avdonina@mail.ru. ©Авдонина А. С. и др.

** For correspondence: Avdonina Alexandra Sergeevna, Head of Advanced Development Department of Closed Joint Stock Company «EKOlab». +7(49643)3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-avdonina@mail.ru. ©Avdonina AS et al.

development quite actual. **Aim.** The aim of this research was the development of a Russian test kit for detecting IgM-antibodies to individual rubella virus antigens by immune blotting (Western blot format). **Materials and methods.** Production of immunosorbent for a new test kit included electrophoresis of the native rubella virus lysate in a polyacrylamide gel to separate proteins by molecular weight and transfer (blotting) of separated proteins onto a nitrocellulose membrane. Investigation of sensitivity and specificity of the new test kit was carried with standard panels of serums containing and not containing IgM to the rubella virus, and with clinical samples characterized by the ELISA method. **Results and its discussion.** As a result of this work, was designed a Russian test kit that allowed detection IgM-antibodies to individual rubella virus antigens by immune blotting. This test kit has analytical sensitivity and specificity – 100%, diagnostic sensitivity – at least 99.61% and diagnostic specificity – and at least 99-99%. The diagnostic efficiency is not less than 99.5%. **Conclusion.** The developed test kit has high rates of analytical and diagnostic sensitivity and specificity, as well as high diagnostic efficiency. It is intended for confirmatory research in the diagnosis of rubella infection.

Keywords: Rubella, Rubella virus, IgM-antibodies, immunoblotting

No conflict of interest to declare.

Study transparency. The study did not have sponsorship. The authors are solely responsible for providing the final version of the manuscript in print.

For citation: Mardanly SG, Avdonina AS. Development and Investigation of Diagnostic Efficiency of a Test Kit for the Detection of IgM-antibodies to Individual Antigens of Rubella Virus by Immunoblotting (Western Blot). *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):57–63. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-57-63>.

Введение

Значительное сокращение заболеваемости краснухой во всех странах, в которых регулярно проводится вакцинация, все же в полной мере не снизило медико-социальную значимость данной инфекции. И хотя число зарегистрированных случаев краснушной инфекции стало несопоставимо ниже, чем в довакцинальный период [1], и продолжает снижаться (670 894 случаев в 102 странах в 2000 г. и 22 361 случаев в 165 странах в 2016 г.) [2], проблема врожденной краснухи и ее последствий для плода и новорожденного полностью не решена. В то же время потребность в эффективных методах лабораторной диагностики краснухи даже увеличилась в связи с необходимостью дифференциации поствакцинальных состояний от еще встречающихся случаев первичной краснушной инфекции и реинфекции, в том числе протекающих бессимптомно [3,4].

Классическая схема серологической диагностики первичной краснухи основана на выявлении с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови обследуемого вирус-специфических IgM или четырехкратного увеличения титров вирус-специфических IgG [5,6]. Однако положительный результат на IgM не всегда указывает на первичную инфекцию, а может быть обусловлен реинфекцией [7,8] или длительным (до 6 лет и более) сохранением IgM после естественно приобретенной инфекции или вакцинации [9–11]. Наличие длительно сохраняющихся IgM подтверждается в том случае, когда их умеренное или высокое содержание обнаруживается по меньшей мере двумя разными методами в парных образцах сыворотки через несколько лет после первичного выявления [12].

Наличие в сыворотке крови ревматоидного фактора может стать причиной ложноположительного результата, в то время как отсутствие или замедленное появление IgM может привести

к ложноотрицательному результату и исключению первичной инфекции [13]. Кроме того, к специфическому и неспецифическому (потенциально перекрестно реактивному) IgM-ответу может привести инфицирование другими патогенами, такими как вирус Эпштейна-Барр, парвовирус человека B19 или случайная поликлональная стимуляция В-клеток [14–16].

В этой связи правильная трактовка положительных IgM-ответов, позволяющая дифференцировать раннюю стадию краснушной инфекции и длительное присутствие IgM, а также исключать ложноположительные результаты, становится на сегодняшний день одной из наиболее значимых проблем в серологической диагностике краснухи.

Для этой цели наиболее эффективно применение иммунного блоттинга (ИБ), позволяющего проводить исследование на наличие антител (в том числе и IgM) к отдельным антигенам возбудителя [17–22].

Однако в настоящее время в Российской Федерации нет ни одной доступной тест-системы, предназначенной для диагностики краснушной инфекции методом ИБ и позволяющей выявлять IgM к отдельным антигенам вируса краснухи, что делает безусловно актуальной задачу ее разработки и внедрения в практику отечественного здравоохранения.

Цель данной работы – разработка и оценка диагностической эффективности иммуноферментной тест-системы (на основе нативного лизата вируса краснухи) для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot».

Материалы и методы

Для получения иммуносорбента использовали лизат вируса краснухи фирмы «Biokit» (Испания). В качестве твердой фазы при изготовлении иммуносорбента была применена нитроцеллюлозная мембрана фирмы «Sartorius» (Германия).

При получении иммуносорбента реализовывались следующие методы:

1. Вертикальный электрофорез лизата вируса краснухи в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН-электрофорез, денатурирующие условия по Laemmli U.K. [23]) и β-меркаптоэтанола (восстановленные условия), приводящий к разделению белков (антигенов) по молекулярному весу.

2. Электроперенос разделенных антигенов лизата вируса краснухи из геля на нитроцеллюлозную мембрану (блоттинг).

3. Выявление нанесенных на мембрану антигенов с помощью иммунного блоттинга с последующей визуальной оценкой результатов исследования.

Для детекции вирус-специфических IgM, связавшихся с антигенами иммуносорбента, использовали козы антитела против IgM человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой, фирмы «Jakson» (США). Для индикации реакции использовали окрашивающий раствор фирмы «Кет-Еп-Тес» (Дания), содержащий 5-бром-1-хлор-3-индолилфосфат и нитроголубой тетразолий.

В качестве референсного материала при оценке диагностической чувствительности разработанной тест-системы были исследованы сыворотки стандартной панели положительных образцов предприятия ЗАО «ЭКОлаб», содержащих IgM к отдельным антигенам вируса краснухи (СОП⁺-Краснуха-М – 12 образцов). В качестве референсного материала при оценке диагностической специфичности разработанной тест-системы были исследованы сыворотки стандартной панели отрицательных образцов предприятия ЗАО «ЭКОлаб», не содержащих антитела к вирусу краснухи (СОП⁻-Краснуха – 12 образцов). Образцы данных панелей изготавливали из сывороток, полученных в коммерческой лаборатории «ИНВИТРО» (г. Москва) и предварительно исследованных на наличие или отсутствие IgM к вирусу краснухи в тест-системах «ИФА-Краснуха-IgM» и «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM» [24] фирмы ЗАО «ЭКОлаб» (Россия). Дополнительным критерием отбора сывороток явилось отсутствие в них антител к возбудителю сифилиса – *Treponema pallidum*, вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1,2), гепатитов В и С, а также антигенов р24 ВИЧ-1 и HBsAg по результатам скринингового исследования в ИФА.

В качестве клинического материала при оценке диагностической чувствительности и специфичности разработанной тест-системы были использованы сыворотки, полученные из Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва), а также из диагностического центра «EiClinic» (г. Электрогорск, Московская область). Сыворотки были предварительно протестированы на наличие IgM к вирусу краснухи с помощью тест-системы «ИФА-Краснуха-IgM» фирмы ЗАО «ЭКОлаб» (Россия).

Расчет показателей диагностической чувствительности, специфичности и эффективности, а

также статистическая обработка полученных результатов выполнены в соответствии с рекомендациями по анализу и статистической оценке результатов клинико-лабораторных исследований [25,26].

Статистическую достоверность результатов испытаний определяли по формуле:

$$D\% = (1-C/100)^{(1/n)} * 100\%,$$

где D% – статистическая достоверность результатов испытаний, выраженная в процентах;

C – доверительная вероятность;

n – число исследованных проб [25].

Расчеты проводили для доверительной вероятности 95% (p = 0,05).

Для разработки новой тест-системы потребовалось решение следующих задач:

- определение оптимального количества лизата вируса краснухи для нанесения на поверхность ПААГ;
- подбор условий электрофореза и электропереноса белков на нитроцеллюлозную мембрану;
- определение условий последующей обработки мембраны;
- оптимизация состава остальных компонентов тест-системы (буферные растворы для промывания стрипов и разведения сывороток, конъюгат и окрашивающий раствор);
- подбор оптимальных условий проведения анализа (разведение образца, время инкубаций).

Результаты и их обсуждение

В вирусе краснухи выделены три иммунологически значимых антигена – капсидный (С-белок) и два поверхностных гликопротеина оболочки (Е1 и Е2) [27,28].

Антиген С – негликозилированный белок, молекулярная масса которого зависит от условий электрофореза: при электрофорезе в восстановленных условиях (в присутствии β-меркаптоэтанола) она составляет 33 килодальтон (кДа), а в невосстановленных условиях выделяется его димер с молекулярной массой около 66 кДа [20].

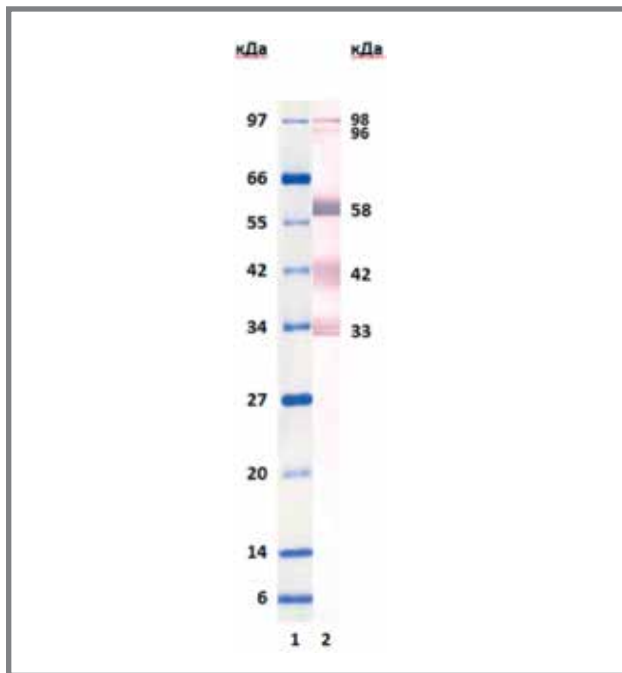
Молекулярная масса Е1 – 58 кДа и Е2 – 42–48 кДа [29].

Электрофоретический анализ антигенного состава лизата вируса краснухи показал наличие в нем всех основных высокоспецифичных антигенов: димера поверхностных гликопротеинов Е1 и Е2 (молекулярная масса 96–98 кДа), поверхностного гликопротеина Е1 (58 кДа), поверхностного гликопротеина Е2 (42 кДа) и мономера капсидного белка С вируса (33 кДа). Результаты данного исследования представлены на рисунке 1.

В ходе испытаний было установлено, что для более четкого электрофоретического разделения белков по молекулярному весу необходимо использование двухфазного ПААГ с концентрацией акриламида 11,5% в нижней фазе и 4% в верхней фазе.

На втором этапе были подобраны оптимальные составы реагентов для проведения анализа

Рисунок 1. Результаты электрофоретического анализа антигенного состава лизата вируса краснухи
Figure 1. Results of electrophoretic analysis of the antigenic composition of rubella virus lysate



Примечание: 1 – белковый маркер молекулярного веса; 2 – результат ИБ мембраны с нанесенными антигенами лизата вируса краснухи при исследовании положительной сыворотки.
 Note: 1 – protein marker of molecular weight; 2 – the result of study of positive serum by immune blotting on membrane coated with rubella virus lysate antigens.

(раствор для разведения сывороток, промывочный раствор, конъюгат) и отработана схема постановки ИБ. Были определены оптимальное разведение исследуемого образца, время инкубации стрипов иммуносорбента с сывороткой, конъюгатом и окрашивающим раствором.

Итогом разработки явилась тест-система «ИФА-Блот-Краснуха-IgM» следующего состава:

1. Иммуносорбент – полоски (стрипы) из нитроцеллюлозной мембраны с сорбированными на них методом электропереноса отдельными антигенами вируса краснухи: гр 98 – гр 96 (димер гликопротеинов E1-E2), гр 58 (гликопротеин E1), гр 42 (гликопротеин E2), р 33 (С-белок);

в виде контрольной линии нанесены антитела против IgM человека.

2. Конъюгат – козьи антитела против IgM человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой.
3. Окрашивающий раствор – 5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат и нитроголубой тетразолий.
4. 5-кратный концентрат промывочного раствора [ПР(x5)].
5. Раствор для разведения сывороток (PPC).
6. Референс-стрип (или его фотография) – стрип с проявленным белковым профилем антигенов вируса краснухи: гр 98 – гр 96 (димер гликопротеинов E1-E2), гр 58 (гликопротеин E1), гр 42 (гликопротеин E2), р 33 (С-белок).

Результаты теста оцениваются визуально, интерпретация результатов для каждого исследованного образца осуществляется в зависимости от того, к каким антигенам были выявлены антитела (табл. 1).

Диагностическая чувствительность и эффективность разработанной тест-системы были предварительно оценены на сыворотках стандартных панелей положительных и отрицательных образцов. Результаты данного исследования приведены в таблице 2.

Результаты, приведенные в таблице 2, показывают полное совпадение оценок сывороток панелей, полученных в исследовании, с их исходными характеристиками, при этом показатели диагностической чувствительности и специфичности составили 85–100% с доверительной вероятностью 95%.

Более обстоятельная оценка диагностической эффективности разработанной тест-системы была проведена при исследовании 1000 образцов клинического материала, в 16 из которых предварительное исследование в скрининговой тест-системе «ИФА-Краснуха-IgM» фирмы ЗАО «ЭКОлаб» показало наличие IgM, в 980 образцах – их отсутствие, и 4 образца были признаны неопределенными по наличию IgM (оптическая плотность в ИФА в пределах «серой зоны»).

Результаты исследования в разработанной тест-системе сывороток, содержащих и не содержащих IgM к вирусу краснухи, приведены в таблице 3.

Полученные результаты с доверительной вероятностью 95% дают диагностическую чувствительность,

Таблица 1. Интерпретация результатов ИБ в тест-системе «ИФА-Блот-Краснуха-IgM»
Table 1. Interpretation of immunoblot results in the test kit «Blot-Rubella-IgM»

Наличие IgM к антигенам вируса краснухи The presence of IgM to rubella virus antigens	Обозначение Designation	Результат Result
Выявлены антитела хотя бы к одному из гликопротеинов Antibodies to at least one of the glycoproteins were detected	+	Положительный Positive
Не выявлены антитела ни к одному из антигенов Antibodies to none of antigens not detected	-	Отрицательный Negative
Выявлены антитела к антигену р33 при отсутствии антител к гликопротеинам Antibodies to p33 antigen were detected in the absence of antibodies to glycoproteins	+/-	Неопределенный Indeterminate

Таблица 2. Результаты исследования сывороток стандартных панелей в тест-системе «ИФА-Блот-Краснуха-IgM»
Table 2. Test results for serums of standard panel in the test kit «Blot-Rubella-IgM»

Панель Panel	№ образца sample number	Результаты исследования в тест-системе Test results in a test kit		
		«ИФА-Краснуха- IgM», ИП* «ELISA-Rubella-IgM», IP	«ИФА-Блот-Краснуха-IgM» «Blot-Rubella-IgM»	
			наличие антител к антигенам the presence of antibodies to antigens	Оценка diagnosis
Положительных образцов Positive samples	1	1,43	E1, C	положительный positive
	2	1,16	E1, C	положительный positive
	3	1,56	E1, C	положительный positive
	4	2,0	E1, C	положительный positive
	5	3,5	E1, C	положительный positive
	6	1,31	E1, C	положительный positive
	7	2,42	E1, C	положительный positive
	8	1,77	E1, E2, C	положительный positive
	9	1,31	E1, C	положительный positive
	10	1,22	E1, C	положительный positive
	11	1,24	E1, E2, C	положительный positive
	12	1,48	E1, C	положительный positive
Отрицательных образцов / Negative samples	1	0,391	–	отрицательный negative
	2	0,469	–	отрицательный negative
	3	0,359	–	отрицательный negative
	4	0,409	–	отрицательный negative
	5	0,394	–	отрицательный negative
	6	0,372	–	отрицательный negative
	7	0,425	–	отрицательный negative
	8	0,441	–	отрицательный negative
	9	0,413	–	отрицательный negative
	10	0,403	–	отрицательный negative
	11	0,416	–	отрицательный negative
	12	0,438	–	отрицательный negative

Примечание: *ИП – индекс позитивности (отношение оптической плотности в лунках с исследуемыми образцами к критической оптической плотности).

Note: *IP – index of positivity (ratio of optical density in wells with test samples to critical optical density).

Таблица 3. Результаты исследования образцов клинического материала в тест-системе «ИФА-Блот-Краснуха-IgM»
Table 3. Test results for people samples in the test kit «Blot-Rubella-IgM»

Группа образцов Group of samples	Число исследованных образцов The number of samples studied	Результаты исследования в ИБ Immunoblot study results	
		Положительный Positive	Отрицательный Negative
Сыворотки, содержащие IgM к вирусу краснухи Serums containing IgM to rubella virus	16	16	0
Сыворотки, не содержащие IgM к вирусу краснухи Serums not containing IgM to rubella virus	980	0	980

не менее 99,61%, а диагностическую специфичность – не менее 99,99%.

Во всех 4 сыворотках, признанных в ИФА определенными по содержанию IgM к вирусу краснухи, в ИБ были выявлены антитела к антигенам E1 и С, не выявлены антитела к антигену E2 и получен сомнительный результат по антителам к димеру E1–E2, что позволило оценить все эти образцы как положительные.

Итоговая оценка диагностической эффективности разработанной тест-системы с доверительной вероятностью 95% дает значение 99,5–100%.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что разработанная тест-система «ИФА-Блот-Краснуха-IgM», предназначенная для выявления антител класса М к отдельным антигенам вируса краснухи методом иммунного блоттинга в формате «Western blot», имеет высокие показатели диагностической чувствительности и специфичности, демонстрирует высокую диагностическую эффективность.

Разработанная тест-система может быть использована для проведения подтверждающих исследований в диагностике краснушной инфекции.

Литература

1. Наздрачева А. В., Семенов Т. А., Марданлы С. Г. и др. Оценка напряженности гуморального иммунитета к кори и краснухе у беременных женщин в Москве. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2017. № 3. – С. 91–98.
2. Краснуха. Информационный бюллетень ВОЗ. Октябрь 2019 г. Доступно на: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/rubella>. Ссылка активна на 05.06.2020.
3. Марданлы С. Г. Эпидемиологический надзор за инфекциями TORCH-группы на основе современных технологий лабораторной диагностики: Дисс. ... д-ра мед. наук. – Москва, 2016.
4. Марданлы С. Г., Симонова Е. Г., Симонов В. В. Инфекции TORCH-группы: клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор и контроль. – Орехово-Зуево: Издательство ГТТУ; 2018.
5. Best J.M., O'Shea S., Tipples G., et al. Interpretation of rubella serology in pregnancy – pitfalls and problems. // BMJ. 2002. Vol. 325. P. 147–148.
6. Dwyer D.E., Robertson P.W., Fields P.R. Broadsheet: clinical and laboratory features of rubella. // Pathology. 2001. Vol. 33. P. 322–328.
7. Aboudy Y., Barnea B., Yosef L., et al. Clinical rubella re-infection during pregnancy in a previously vaccinated woman. // J. Infect. 2000. Vol. 41. P. 187–189.
8. Morgan-Capner P., Hodgson J., Hambling M.H., et al. Detection of rubella-specific IgM in subclinical rubella reinfection in pregnancy. // Lancet. 1985. Vol. 1. P. 244–246.
9. Al-Nakib W., Best J.M., Banatvala J.E. Rubella-specific serum and nasopharyngeal immunoglobulin responses following naturally acquired and vaccine-induced infection. Prolonged persistence of virus-specific IgM. // Lancet. 1975. Vol. 1. P. 182–185.
10. Banatvala J.E., Best J.M., O'Shea S., et al. Persistence of rubella antibodies after vaccination: detection after experimental challenge. // Rev. Infect. Dis. 1985. Vol. 1, № 7. P. 86–90.
11. Pattison J.R. Persistence of specific IgM after natural infection with rubella virus. // Lancet. 1975. Vol. 1. P. 185–187.
12. Wandinger K-P, Saschenbrecker S., Steinhagen K., et al. Diagnosis of recent primary rubella virus infections: Significance of glycoprotein-based IgM serology, IgG avidity and immunoblot analysis. // Journal of Virological Methods. 2011. Vol. 174, № 1–2. P. 85–93.
13. Meurman O.H., Ziola B.R. IgM-class rheumatoid factor interference in the solid-phase radioimmunoassay of rubella-specific IgM antibodies. // J. Clin. Pathol. 1978. Vol. 31. P. 483–487.
14. Morgan-Capner P., Tedder R.S., Mace J.E. Rubella-specific IgM reactivity in sera from cases of infectious mononucleosis. // J. Hyg. (Lond). 1983. Vol. 90. P. 407–413.
15. Thomas H.I., Barrett E., et al. Simultaneous IgM reactivity by EIA against more than one virus in measles, parvovirus B19 and rubella infection. // J. Clin. Virol. 1999. Vol. 14. P. 107–118.
16. Tipples G.A., Hamkar R., Mohktari-Azad T., et al. Evaluation of rubella IgM enzyme immunoassays. // J. Clin. Virol. 2004. Vol. 30. P. 233–238.
17. Chaye H.A.H., Mauracher Ch.A., Tingle A.J., et al. Cellular and Humoral Immune Responses to Rubella Virus Structural Proteins E1, E2, and C. // Journal of Clinical Microbiology. 1992. Vol. 30. P. 2323–2329.
18. Cusi M.G., Metelli R., Valensin P.E. Immune responses to wild and vaccine rubella viruses af65 ter rubella vaccination. // Arch. Virol. 1989. Vol. 106. P. 63–72.
19. Dimech W., Grangeot-Keros L., Vauloup-Fellous Ch. Standardization of Assays That Detect Anti-Rubella Virus IgG Antibodies. // Clinical Microbiology Reviews. 2016. Vol. 29, № 1. P. 163–174.
20. Mauracher C.A., Mitchell L.A., Shukin R., et al. pH-dependent solubility shift of rubella virus capsid protein. // Virology. 1991. Vol. 181. P. 773–777.
21. Nedeljkovic J., Jovanovic T., Mladjenovic S., et al. Immunoblot analysis of natural and vaccine-induced IgG responses to rubella virus proteins expressed in insect cells. // J. Clin. Virology. 1999. Vol. 14, № 2. P. 119–131.
22. Serdula M.K., Halstead S.B., Wiegenga N.H., et al. Serological response to rubella revaccination. // JAMA. 1984. Vol. 251. P. 1974–1977.
23. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
24. Арсенева В.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. и др. Линейный иммуноблоттинг для одновременного выявления антител к основным возбудителям инфекций TORCH-группы. // Медицинский алфавит. 2017. Т. 2, №20(317). С. 43–48.
25. Антонов В.С. Вопросы статистической оценки результатов клинических испытаний медицинских изделий для in vitro диагностики. Доступно на: <https://docplayer.ru/118768-Voprosy-statisticheskoy-ocenki-rezultatov-klinicheskikh-ispytaniy-meditsinskikh-izdeliy-dlya-in-vitro-diagnostiki-antonov-v-s-zamestitel-generalnogo.html>. Ссылка активна на 05.06.2020.
26. Чернов В.И., Есауленко И.Э., Родионов О.В. и др. Медицинская информатика: учеб. пособие. – Ростов н/Д: Феникс; 2007.
27. Dorsett P.H., Miller D.C., Green K.Y., et al. Structure and function of the rubella virus proteins. // Rev. Infect. Dis. 1985. Vol. 7. P. 150–156.
28. Petterson R.F., Oker-Blom C., Kalkkinen N., et al. Molecular and antigenic characteristics and synthesis of rubella virus structural proteins. // Rev. Infect. Dis. 1985. Vol. 7. P. 140–149.
29. Oker-Blom C., Kalkkinen N., Käriäinen L., et al. Rubella virus contains one capsid protein and three envelope glycoproteins, E1, E2a and E2b. // J. Virol. 1983. Vol. 46. P. 964–973.

References

- Nozdracheva AV, Semenenko TA, Mardany SG, et al. Evaluation of intensity of humoral immunity to measles and rubella in pregnant women in Moscow. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2017;3:91–98. (In Russ). doi:10.36233/0372-9311-2017-3-91-98.
- Rubella. WHO Newsletter. October 2019. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/rubella>. Accessed: 05.06.2020.
- Mardany SG. *Epidemiologicheskij nadzor za infektsiyami TORCH-gruppy na osnove sovremennykh tekhnologiy laboratornoy diagnostiki [dissertation]*. Moscow; 2016. (In Russ).
- Mardany SG, Simonova YeG, Simonov VV. *Infektsii ToRCH-gruppy: klinicheskaya laboratornaya diagnostika, epidemiologicheskij nadzor i kontrol'*. Orekhovo-Zuyevo: Izdatel'stvo GGTU; 2018. (In Russ).
- Best JM, O'Shea S, Tipples G, et al. Interpretation of rubella serology in pregnancy – pitfalls and problems. *BMJ*. 2002;325:147–148. doi: 10.1136/bmj.325.7356.147.
- Dwyer DE, Robertson PW, Fields PR. Broadsheet: clinical and laboratory features of rubella. *Pathology*. 2001;33:322–8. doi: 10.1080/00313020126300.
- Aboudy Y, Barnea B, Yosef L, et al. Clinical rubella reinfection during pregnancy in a previously vaccinated woman. *J. Infect.* 2000;41:187–9. doi: 10.1053/jinf.2000.0716.
- Morgan-Capner P, Hodgson J, Hambling MH, et al. Detection of rubellasppecific IgM in subclinical rubella reinfection in pregnancy. *Lancet*. 1985;1:244–6. doi: 10.1097/00006254-198509000-00006.
- Al-Nakib W, Best JM, Banatvala JE. Rubella-specific serum and nasopharyngeal immunoglobulin responses following naturally acquired and vaccine-induced infection. Prolonged persistence of virus-specific IgM. *Lancet*. 1975;1:182–5. doi: 10.1016/s0140-6736(75)91356-2.
- Banatvala JE, Best JM, O'Shea S, et al. Persistence of rubella antibodies after vaccination: detection after experimental challenge. *Rev. Infect. Dis.* 1985;1(7):86–90. doi: 10.1093/clinids/7.supplement_1.s86.
- Pattison JR. Persistence of specific IgM after natural infection with rubella virus. *Lancet*. 1975;1:185–7. doi: 10.1016/s0140-6736(75)91357-4.
- Wandinger K-P, Saschenbrecker S, Steinhagen K, et al. Diagnosis of recent primary rubella virus infections: Significance of glycoprotein-based IgM serology, IgG avidity and immunoblot analysis. *Journal of Virological Methods*. 2011;174(1–2):85–93. doi: 10.1016/j.jvromet.2011.04.001.
- Meurman OH, Ziola BR. IgM-class rheumatoid factor interference in the solid-phase radioimmunoassay of rubella-specific IgM antibodies. *J. Clin. Pathol.* 1978;31:483–7. doi: 10.1136/jcp.31.5.483.
- Morgan-Capner P, Tedder RS, Mace JE. Rubella-specific IgM reactivity in sera from cases of infectious mononucleosis. *J. Hyg. (Lond)*. 1983;90:407–13. doi: 10.1017/s0022172400029041.
- Thomas HJ, Barrett E, Hesketh LM, et al. Simultaneous IgM reactivity by EIA against more than one virus in measles, parvovirus B19 and rubella infection. *J. Clin. Virol.* 1999;14:107–18. doi: 10.1016/s1386-6532(99)00051-7.
- Tipples GA, Hamkar R, Mohktari-Azad T, et al. Evaluation of rubella IgM enzyme immunoassay. *J. Clin. Virol.* 2004;30:233–38. doi: 10.1016/j.jcv.2003.11.006.
- Chaye HAH, Mauracher ChA, Tingle AJ, et al. Cellular and Humoral Immune Responses to Rubella Virus Structural Proteins E1, E2, and C. *Journal of Clinical Microbiology*. 1992;30:2323–29. doi: 10.1016/s0016-5085(98)85023-3.
- Cusi MG, Metelli R, Valensin PE. Immune responses to wild and vaccine rubella viruses after rubella vaccination. *Arch. Virol.* 1989;106:63–72. doi: 10.1007/bf01311038.
- Dimech W, Grangeot-Keros L, Vauloup-Fellous Ch. Standardization of Assays That Detect Anti-Rubella Virus IgG Antibodies. *Clinical Microbiology Reviews*. 2016;29(1):163–74. doi: 10.1128/cmr.00045-15.
- Mauracher CA, Mitchell LA, Shukin R, et al. pH-dependent solubility shift of rubella virus capsid protein. *Virology*. 1991;181:773–7. doi: 10.1016/0042-6822(91)90916-y.
- Nedeljkovic J, Jovanovic T, Mladjenovic S, et al. Immunoblot analysis of natural and vaccine-induced IgG responses to rubella virus proteins expressed in insect cells. *J. Clin. Virology*. 1999;14(2):119–31. doi: 10.1016/s1386-6532(99)00048-7.
- Serdula MK, Halstead SB, Wiegenga NH, et al. Serological response to rubella revaccination. *JAMA*. 1984;251:1974–77. doi: 10.1001/jama.251.15.1974.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227:680–5. doi: 10.1038/227680a0.
- Arsen'yeva VA, Amelina YeA, Mardany SG, et al. Linear immunoblotting for simultaneous detection of antibodies to main pathogens of TORCH-infection. *Medical alphabet*. 2017;2,20(317):43–48. (In Russ.).
- Antonov VS. Questions of statistical evaluation of the results of clinical trials of medical products for in vitro diagnostics (in Russ.). Available at: <https://docplayer.ru/118768-Vo-prosy-staticheskoy-ocenki-rezultatov-klinicheskikh-ispytaniy-medicinskikh-izdelyi-dlya-in-vitro-diagnostiki-antonov-v-s-zamestitel-generalnogo.html>. Accessed: 05.06.2020.
- Chernov VI, Yesaulenko IE, Rodionov OV, et al. *Meditsinskaya informatika: Ucheb. Posobiye [Medical Informatics: Textbook]*. Rostov on Don: Phoenix; 2007.
- Dorsett PH, Miller DC, Green KY, et al. Structure and function of the rubella virus proteins. *Rev. Infect. Dis.* 1985;7:150–6. doi: 10.1093/clinids/7.supplement_1.s150.
- Pettersson RF, Oker-Blom C, Kalkkinen N, et al. Molecular and anti-genic characteristics and synthesis of rubella virus structural proteins. *Rev. Infect. Dis.* 1985;7:140–9. doi: 10.1093/clinids/7.supplement_1.s140.
- Oker-Blom C, Kalkkinen N, Käriäinen L, et al. Rubella virus contains one capsid protein and three envelope glycoproteins, E1, E2a and E2b. *J. Virol.* 1983;46:964–73.

Об авторах

- Сейфаддин Гашимович Марданлы** – д. м. н., профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин Государственного гуманитарно-технологического университета, президент и директор по науке ЗАО «ЭКОлаб». +7(49643) 3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-president@mail.ru. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4556-135X>.
- Александра Сергеевна Авдонина** – начальник отдела перспективных разработок ЗАО «ЭКОлаб». +7(49643)3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-avdonina@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2990-4930>.

Поступила: 31.07.2019. Принята к печати: 8.06.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- Seyfaddin G. Mardanyly** – Dr. Sci. (Med.), Professor of Department of Pharmacology and Pharmaceutical Disciplines at State University of Humanities and Technology; President and Director of science of Closed Joint Stock Company «EKOLab», +7(49643) 3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-president@mail.ru. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4556-135X>.
- Alexandra S. Avdonina** – Head of Advanced Development Department of Closed Joint Stock Company «EKOLab». +7(49643)3-13-74, 3-17-45, 3-35-29, ekolab-avdonina@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2990-4930>.

Received: 31.07.2019 Accepted: 8.06.2020

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-64-68>

Менингококковый уретрит — дополнительный источник менингококковой инфекции?

Н. Н. Костюкова*, В. А. Бехало

ФГБУ «НИЦ эпидемиологии и микробиологии им Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России

Резюме

Актуальность. Начиная с середины прошлого века появлялись сообщения о выделении *Neisseria meningitidis* из нижних отделов урогенитального тракта и анального канала, как с признаками, так и без признаков воспаления. Во второй декаде XXI века число таких сообщений значительно возросло, причем большинство описанных случаев было вызвано новым генетическим клadem менингококка. **Цель.** Обзор посвящен острым менингококковым уретритам, их возможной эпидемиологической значимости и свойствам возбудителя. **Результаты.** Особое внимание уделено вспышкам менингококковых уретритов, вызванных генетическим клadem «USNmCU», возникшим в нескольких штатах США в 2013–2016 гг. Изоляты от больных были бескапсульными и принадлежали к клональному комплексу CC-11, наиболее вирулентному среди штаммов серогрупп B, C, Y, W. Доказана ороргинальная передача штаммов клада. Предполагается, что в результате генетических рекомбинаций при совместном нахождении с *N. gonorrhoeae* на слизистых оболочках *N. meningitidis* приобрела гены, обеспечивающие анаэробный рост, способствующий колонизации урогенитального тракта. Предполагается, что уретритогенный менингококковый клад есть результат адаптации капсульного штамма менингококка серогруппы C клонального комплекса CC-11, ответственного за вспышки генерализованной менингококковой инфекции в сообществах мужчин-гомосексуалистов. Эти уретритогенные штаммы рассматривают как эмергентный клад *N. meningitidis*. Способность штаммов этого клада передаваться при прямом половом контакте неизвестна.

Выводы. Эпидемиологическая значимость уретритов, вызванных новым клadem, в распространении менингококковой инфекции пока неясна. Обосновано дальнейшее изучение этой проблемы в нашей стране.

Ключевые слова: менингококковая инфекция, источники менингококковой инфекции, уретриты, менингококковые уретриты
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Костюкова Н. Н., Бехало В. А. Менингококковый уретрит — дополнительный источник менингококковой инфекции? Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):64–68. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-64-68>.

Meningococcal Urethritis: an additional Source of Meningococcal Disease?

NN Kostyukova**, VA Bekhalo

N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Abstract

Background. Beginning with the middle of the XX century some observations about cases of meningococcal urethritis have appeared. The number of articles for such subjects has promptly increased in the last decade of XXI. The epidemiological features of meningococcal urethritis are slightly understood. **Aims.** A review of the latest publications on meningococcal urethritis is presented. Particular attention is given to outbreaks of meningococcal urethritis caused by the new genetic clade USNmCU of *N. meningitidis*, which occurred in several US states in 2013–2016. **Conclusions.** The isolates from patients were non-capsulated and belonged to the CC-11 clonal complex, the most virulent among *N. meningitidis* strains of serogroups B, C, Y, W. The orogenital transmission of clade strains has been proven. It is assumed that *N. meningitidis* acquired genes for anaerobic growth as a result of genetic recombination during co-presence with *N. gonorrhoeae* on the mucous membranes and became to be able to colonize the urogenital tract. The urethritisogenic meningococcal clade is the result of the adaptation of the capsular strain of meningococcus serogroup C of the clonal complex CC-11, which is responsible for outbreaks of generalized meningococcal infection in MSM communities. The urethritisogenic strains are considered as representatives of the emergent clade of *N. gonorrhoeae*. Their ability to be transmitted through direct sexual contact is unknown. The epidemiological role of the clade in the spread of meningococcal infection is discussed. It is necessary to develop the researches concerning the epidemiological features of meningococcal urethritis and its additional role as the source of meningococcal disease.

Keywords: meningococcal infection, sources of meningococcal disease, urethritis, meningococcal urethritis

No conflict of interest to declare.

For citation: Kostyukova NN, Bekhalo VA. Meningococcal Urethritis: an additional Source of Meningococcal Disease? Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2020;19(3):64–68. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-64-68>.

* Для переписки: Костюкова Наталья Николаевна, д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи». +7 (499) 193-61-51, +7 (499) 249-69-24, nathakos@mail.ru. © Костюкова Н. Н. и др.

** For correspondence: Kostyukova Natalya, Dr. Sci. (Med.), Professor, Leading Researcher, Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology N. F. Gamalei. +7 (499) 193-61-51, +7 (499) 249-69-24, nathakos@mail.ru. © Kostyukova NN et al.

Гонококк и менингококк относятся к роду *Neisseria*. Человек – их единственный хозяин в природе. Оба вида имеют тканевую тропность к слизистым оболочкам, однако различаются по способу взаимоотношений с тканями хозяина. Основной формой менингококковой инфекции является бессимптомная колонизация слизистых оболочек верхних дыхательных путей – бактерионосительство [1]. У части инфицированных лиц возникают легкие местные воспалительные процессы – назофарингиты и, в редких случаях, – генерализованная инфекция в виде сепсиса и/или менингита (на 100–100 000 инфицированных).

Для гонококка наиболее характерным являются местные воспалительные поражения урогенитального тракта (острые и хронические) и, как большая редкость, – генерализованные процессы, включая менингиты [2]. Описаны случаи выделения гонококка из носоглотки и иногда с воспалительными проявлениями (назофарингиты) [3–5].

В отношении менингококка *Neisseria meningitidis* еще в середине прошлого века появлялись сообщения о его выделении из нижних отделов урогенитального тракта и анального канала, как с признаками, так и без признаков воспаления. Число описаний таких случаев резко возросло к 1970–1980 гг. [3,6–9] Морфологическое сходство гонококков и менингококков, выявляемое при микроскопии окрашенных по Граму мазков, не позволяло в условиях практики разграничить эти два вида. В плане бактериологической диагностики оба вида относятся к трудно культивируемым бактериям, и не всякая диагностическая лаборатория в состоянии их дифференцировать по биологическим признакам. В конце XX – начале XXI вв. микробиологическая диагностика обогатилась новыми методами (физико-химическими, иммуно-флюоресцентными и т.п.), благодаря чему число выявлений случаев менингококкового поражения урогенитального тракта увеличилось. Положение с обнаружением менингококка улучшилось и с внедрением методов генодиагностики. В 2013 г. в США каждый случай микроскопического выявления гонококка при уретритах стали обязательно подтверждать методами генодиагностики (преимущественно – разными вариантами полимеразно-цепной реакции ПЦР) путем выявления гонококковой ДНК в моче. В случае расхождения результатов (микроскопия отделяемого уретры и генодиагностика с мочой) проводили бактериологическое исследование на менингококк. Благодаря такому подходу в США во второй декаде нашего века были выявлены многочисленные случаи менингококковых поражений генитального тракта и анального канала. Более того, начиная с 2013 г. в США отмечен существенный ежегодный рост обнаружения этих заболеваний.

Цель работы – обзор научных данных об остром уретрите менингококковой этиологии, его возможной эпидемиологической значимости и свойствам возбудителя.

Возбудитель. Начиная со второй половины прошлого века стали появляться сообщения о менингококковых уретритах, в которых указывалось, что выделенные культуры менингококка относились к большинству известных серологических групп или к негруппируемым [3,6,8], а также были чувствительны к основным химиопрепаратам, применявшимся для лечения гонореи. Однако в 2013 г. был выделен [10] бескапсульный (то есть негруппируемый) вариант менингококка, вызвавший случаи уретрита в ряде штатов США. Как и гонококк, этот вариант менингококка не был способен к капсулообразованию. Полногеномное филогенетическое исследование варианта показало, что он имеет делецию в генах локуса *cps*, ответственного за биосинтез капсул. Такие варианты среди менингококков разного происхождения были известны ранее [11], они оказались близки к штаммам серогрупп В, С и Y. Эти изоляты не имели гена биосинтеза сиаловой кислоты *cssA-C* и части гена капсульной полимеразы *csc* [12]. При этом они содержали кассету генов, кодирующих ферменты, способствующие анаэробному существованию [12–14], что несвойственно обычному менингококку. Отсутствие капсул, закрывающих (экранирующих) поверхностные адгезины, облегчает менингококку прикрепление (адгезию) к эпителиальным клеткам, что, в совокупности со способностью к анаэробному существованию, способствует колонизации генитального тракта. Исследователи сочли эти изоляты отдельным кладом (clade) клонального комплекса CC-11/ET-15 и назвали его «US NgNm urethritis» (позднее – US N.m UC) [4, 12, 15], подчеркивая его близость с *N. gonorrhoeae*. Клональный комплекс CC ST-11 встречается преимущественно среди капсульных менингококков серогрупп В, С и Y и считается «гипервирулентным», т. е. выделяется не только от бактерионосителей, но и от заболевших генерализованными формами. Уретритогенный клад, как уже указывалось выше, является бескапсульным, но по белкам наружной мембраны он имеет формулу P1.5-1,10-8, B 2-2, FetA 3-6, присущую клонам CC-11, и содержит уникальный аллель *fHbr* [4,14,15]. Генную кассету, способствующую анаэробному росту (*norB-aniA*), клад, скорее всего, получил от гонококка при совместной колонизации уретры путем горизонтального переноса. Случаи менингококкового носительства в урогенитальном тракте, в том числе одновременно с гонококком, неоднократно описаны [4,6,7,9]. Сравнительный филогенетический анализ изолятов US NgNm *urethritis* (позднее названных US NmUC) показал, что они произошли, по крайней мере, от 8 штаммов менингококка, вызвавших генерализованную форму инфекции, и являются боковой ветвью с общим предком, обнаруженным не ранее 2011 г. [12]. Генетически они более близки к северо-американским изолятам клонального комплекса CC-11, нежели к CC-11, выделенным в Европе [14]. Пока что у изолятов уретрального

клона не найдено генов устойчивости к основным антибиотикам, применяемым для лечения гонореи [12], за исключением одного, резистентного к азитромицину. Все изоляты имели гены, кодирующие структуры менингококка, используемые сейчас в составе вакцины против менингококка серогруппы В [16], что вселяет оптимизм в плане борьбы с заболеваниями, вызванными штаммами US NmUC [12,14].

Эпидемиология. Сведения по эпидемиологической характеристике *Neisseria meningitidis*-уретритов пока что весьма отрывочны. Во второй половине XX века случаи описывались в основном как казуистика, но кое-какие данные все-таки были получены. Так, в клинику, специализирующуюся на лечении инфекций, передающихся половым путем, г. Эдинбурга (Великобритания) в 1977–1978 гг. в течение 12 месяцев обратилось около 4500 человек, из них у 17,5% женщин и 19,2% мужчин была диагностирована гонорея. Менингококк был выделен из уретры только у двоих (мужчина и женщина), а из *rectum* – тоже только у двоих (оба мужчины) [17]. Однако в Лондоне, в конце 1980-х гг. в течение 28 месяцев при обследовании 5571 гомосексуального мужчины (мужчины, имеющие секс с мужчинами – МСМ) гонококк выявлен у 4,7% из них, а менингококк в уретре – у 0,2% (10 человек), т. е. в 23,5 раза реже, но у 8 мужчин был уретрит. В рамках этого же скринингового исследования в почти 25 000 мазков из уретры мужчин-гетеросексуалов и вагины женщин менингококк не был обнаружен [9]. Выделенные при единичных случаях менингококки в большинстве своем имели капсулы и относились к разным серогруппам. Напротив, Faur Y. C. с соавт. [3] сообщают, что выделенные при скрининговом обследовании лиц с уретритом менингококковые штаммы в 1975–1979 гг. в Нью-Йорк Сити в основном были негруппируемыми и особенно часто встречались у МСМ. Появившиеся во второй декаде XXI века в США *N. meningitidis*-уретриты имели уже иную характеристику. Как указывалось, их возбудитель принадлежал к бескапсульному кладу клонального комплекса СС-11, и был способен к анаэробному росту. О распространенности заболевания этой этиологии среди населения судить пока трудно, но есть данные о частоте его встречаемости среди больных уретритами. Так, среди 372 больных с уретритами, вызванными граммотрицательными кокками, в г. Колумбусе (США) в 2015–2016 гг. у 20% (!) выявлен менингококк [4]. В этот период времени количество больных с менингококковыми уретритами ежегодно росло несмотря на постоянство применяющихся методов для их выявления (а именно – при выявлении граммотрицательных кокков в уретре и отсутствии генов гонококка в моче больных производится культуральное исследование на менингококк). В клинике американского г. Индианаполиса в 2013 г. таких больных было 2,8%, в 2014 г. – 1,4%, а в 2015 г. – уже 6,9%

и в 2016 г. – 9,8% [15]. *N. meningitidis* уретриты преимущественно поражают мужчин, среди них теперь преобладают гетеросексуалы [4,15]. Среди 202 менингококковых уретритных штаммов, выделенных в 2015–16 гг. в 13 штатах США и переданных в CDC (The Center for Disease Control and Prevention – Центр по контролю и профилактике заболеваний США), 198 получены от мужчин и только 2 – от женщин [12]. Возраст больных колеблется между 24 и 38 годами с медианой 31 год [4]. Сведения о сезонном распространении менингококковых уретритов более чем скудны. Однако есть упоминание [6], что из 38 штаммов менингококка, выделенных из гениталий в 1975 г. в Нью-Йорке, 32 были обнаружены в первые три месяца года, что характерно для распространения всех форм менингококковой инфекции. Показано, что сопутствующая инфекция *Chlamidia trachomatis* не способствует развитию менингококкового уретрита – при уретритах разной, в том числе и *N. meningitidis* этиологии, она встречалась с одинаковой частотой – 15% [4]. Одновременно отмечено, что в конце XX в. и особенно в начале XXI в. в странах Западной Европы и Северной Америки увеличилось число заболеваний генерализованными формами менингококковой инфекции (ГФМИ) среди МСМ [13,18,19,20] на фоне низкой общей заболеваемости этими формами. Случаи и даже вспышки были вызваны штаммами менингококка серогруппы С (изредка В), относящимися к гипервирулентному клональному комплексу СС-11. Напомним, что штаммы именно этого комплекса, но только бескапсульные, индуцировали рост менингококковых уретритов в США. У некоторых МСМ отмечены и менингококковые уретриты [13]. Филогенетический анализ штаммов СС-11, вызвавших вспышки ГФМИ среди МСМ, позволил предположить, что уретротропные штаммы явились результатом адаптации клона СС-11 к урогенитальному тракту [15]. Было предположено, что уретротропный вариант менингококка передается, прежде всего, при орогенитальном контакте с партнером – фарингеальным носителем менингококка [4,8,21]. Это положение было подтверждено прямым наблюдением российских исследователей [22] в 2007 г., но прошло незамеченным. Авторы описали менингококковый уретрит у двух пар половых партнеров МСМ, у которых и в уретре, и в носоглотке выявлен менингококк. В 2019 г. сходный случай уретрита у МСМ, единственным партнером которого был носитель менингококка в носоглотке, описан [23]. Оба штамма – уретральный и носоглоточный, были бескапсульными, относились к клональному комплексу СС-11 и оказались идентичны по антигенному составу. Следовательно, источником инфекции при уретритах менингококковой природы является носитель менингококка в носоглотке (или, как вариант, больной назофарингитом). Возникает вопрос, является ли менингококковый уретрит «эпидемиологическим тупиком» в цепи заражений или служит

источником новых заражений при передаче половым путем? Faur Y. C. с соавт. [3] выявили пару, в которой женщина имела менингококковое воспаление органов малого таза, а мужчина – уретрит, осложнившийся эпидидимитом той же этиологии. О передаче менингококка половым путем без участия носоглоточного носительства возбудителя мы больше не нашли упоминаний в литературе. Urra E. с соавт. [21] описали пару, в которой мужчина был болен *N. meningitidis*-уретритом, а его жена имела менингококковый вагинит, но одновременно содержала менингококк в носоглотке. Методом гель-электроиммунофореза была показана антигенная идентичность всех трех изолятов. Авторы работ XX и XXI веков отмечали, что не всегда у больных уретритом в носоглотке присутствовал менингококк. Для выяснения вопроса, как часто менингококк (или его разновидность, как описанный клад US N.m. UC) может передаваться при прямом половом контакте, требуется проведение специальных исследований. Одновременно возникает второй, не менее важный, вопрос: могут ли больные *N. meningitidis*-уретритами являться источниками генерализованной менингококковой инфекции? В тех случаях, когда возбудителем уретрита служит штамм, относящийся к вышеописанному генетическому кладу, такая вероятность поначалу кажется небольшой: ведь клад US *N. meningitidis* UC является бескапсульным, а именно капсула защищает менингококк от фагоцитоза, антител и комплемента и обычно присутствует у инвазивных штаммов. Однако имеются описания редких случаев ГФМИ с выделением бескапсульных штаммов, содержащих дефекты в генах капсулообразования [24], то есть имеющих так называемый *capN* («capsule null») локус. Эти изоляты были более вирулентны, чем обычные бескапсульные штаммы. Не исключено, что менингококк может обладать и иными, кроме капсул, факторами инвазии. Следует помнить и о том, что не все капсульные штаммы вызывают ГФМИ. Значит, отсутствие капсул у уретритогенных штаммов менингококка не является гарантией того, что они неспособны вызвать ГФМИ. Нельзя забывать и о лицах, имеющих сниженную иммунологическую резистентность, в частности, к менингококку. Это лица с нарушениями системы комплемента, принимавшие препараты-иммуносупрессоры, например, экулизумаб [25], после спленэктомии, ВИЧ-инфицированные и т.п.

Начиная с 2013 г. в США, действительно, в коллекции изолятов, вызвавших ГФМИ, при генетическом скрининге выявлено 5 (2,4%) бескапсульных штаммов, выделенных и относящихся к кладу US NmUC [12]. Больных менингококковой инфекцией нижних отделов урогенитального тракта, как

возможные источники этой инфекции, исключить нельзя.

И третий вопрос: при совместной колонизации урогенитального тракта гонококком и менингококком, что описано, например, Faur Y. C. с соавт. [3], не получит ли последний от гонококка гены, ответственные за резистентность к антибиотикам? Как уже сообщалось, штаммы клада US NmUC пока чувствительны к антибиотикам, применяющимся при уретритах, что обеспечивало полное излечение инфицированных им больных [10]. Для ответа на эти вопросы необходимо проведение специальных исследований.

Заключение

Анализ представленных материалов свидетельствует о неизученности эпидемиологической значимости недавно описанных эмергентных случаев уретритов, вызванных особой генетической разновидностью менингококка. Пока эти случаи описаны только в США, где в рамках скрининговых программ проводится этиологическая диагностика негонококковых уретритов. Для этого уретральное содержимое используется не только для бактериоскопии, но засеивается в чашку Петри со средой для гонококка (она же – для менингококка) и одновременно берется проба мочи. Последняя используется в постановке генетического анализа на выявление гонококка. В случае положительного результата бактериоскопии, но отрицательного генетического теста мочи, обязательно исследуется посев на присутствие менингококка. Так как такой подход не используется в нашей стране, то менингококковые уретриты ускользают от этиологической расшифровки в диагностических лабораториях. В соответствии с Приказом Минздрава России 2003 г. [5] диагноз гонококкового уретрита основан на микроскопии окрашенного по Граму мазка отделяемого уретры и проведения «микробиологического» исследования без указания, что под этим подразумевается. Клинические рекомендации 2019 г. советуют проведение молекулярно-биологического исследования наряду с культуральным, без указания вида биологического материала [26]. В условиях практики не только молекулярно-биологические, но и бактериологические исследования при уретритах не проводятся. Поэтому встречаемость, распространенность и этиология негонококковых уретритов в России неизвестна. Учитывая, что менингококковые уретриты (и, возможно, проктиты, сальпингиты, цервициты и т.п.) могут оказаться существенными дополнительными источниками менингококковой инфекции, необходимо организовать исследования по их выявлению и учету.

Литература

1. Костюкова Н. Н., Бехало В. А. Менингококковое носительство: эпидемиология, возбудитель, формирование иммунной защиты. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*, 2017;(5):87–97.
2. Taubin HL, Landsberg L. Gonococcal meningitis. *New Engl. J. Med.* 1971;285(9):504–505.

3. Faur YC, May PC. Isolation of *Neisseria meningitidis* from patients in a gonorrhoea screen program: four year survey in New York City. *Am. J. Publ. Health*, 1981;71(1):53–58.
4. Bazan JA, Turner AN, Kirksaldy RD, et al. Large cluster of *Neisseria meningitidis* urethritis in Columbus, Ohio, 2015. *Clin. Infect. Dis.*, 2017;65(1):92–99.
5. Приказ Минздрава РФ от 20.08.2003 № 415 «Об утверждении протокола ведения больных «гонококковая инфекция».
6. Faur YC, Weisburd MH, Wilson ME. Isolation of *Neisseria meningitidis* from the genito-urinary tract and anal canal. *J. Clin. Microbiol.* 1975;2(3):178–182.
7. Givan KF, Thomas BW, Johnston AG. Isolation of *Neisseria meningitidis* from urethra, cervix and anal canal: further observations. *Brit. J. Vener. Dis.* 1977;83: 109–112.
8. Wilson APR, Wolff J, Atia W. Acute urethritis due to *Neisseria meningitidis* group A acquired by orogenital contact. *Genitourin. Med.*, 1989, 65:122–123.
9. Maini M, French P, Prince M. Urethritis due to *Neisseria meningitidis* in a London genitourinary medicine center population. *Int. J. STD AIDS*. 1992;3(6):423–425.
10. Bazan JA, Peterson AS, Kirksaldy RD, et al. Notes from the field: increase of Nm-associated urethritis among men at two central clinics – Columbus, Ohio, and Oakland City, Michigan. 2015. *MMWR*, 2016;65(21):550–552.
11. DoVan-Livengood JM, Miller JK, Martin LE, et al. Genetic basis for nongroupable *Neisseria meningitidis*. *J. Infect. Dis.* 187(10):1626–1628.
12. Rethless AC, Kretz CB, Chang H-Y, et al. Expansion of a urethritis-associated *Neisseria meningitidis* clade in the United States with concurrent acquisition of *N. gonorrhoeae* alleles. *BMC genomics*. 2018.23(2):326.
13. Taha M-Kh, Claus H, Verrier F, et al. Evolutionary events associated with an outbreak of meningococcal disease in men who have sex with men. *PLoS One*. 2016 May 11;11(5):e0154047. doi: 10.1371/journal.pone.0154047. eCollection 2016.
14. Tzeng YL, Bazan JA, Turner AN, et al. Emergence of a new *Neisseria meningitidis* clonal complex 11 lineage 11.2 clade as an effective urogenital pathogen. *PNAS* 2017;114(16):4237–4242.
15. Toh E, Gangaja Dh, Batteiger BE, et al. *Neisseria meningitidis* ST11 complex isolates associated with nongonococcal urethritis, Indiana, USA, 2015–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017;23(2):336–339.
16. McIntosh DV, Garey V, Tonneato D, et al. Prevention of rare diseases: how revolutionary techniques can help vulnerable individuals – the example of serogroup B meningococcal infection. *Ther. Adv. Vaccines*. 2015;3(1):13–23.
17. Blackwell IC, Young H, Bain ShSR. Isolation of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria catharralis* from the genitorurinary tract and anal canal. *Brit. J. Vener. Dis.* 1978;54(1):41–44.
18. Kratz MM, Weiss D, Ridpath A, et al. Community-based outbreak of *Neisseria meningitidis* serogroup C infection in men who have sex with men, New York City, New York, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2015;21(8):1379–1386.
19. Nadura S, Foo Ch, Ngo V, et al. Outbreak of serogroup meningococcal disease primarily affecting men who have sex with men – Southern California, 2016. *MMWR*, 2016;65(35):939–940.
20. Folaramni TA, Kretz CB, Kamiya H, et al. Increased risk for meningococcal disease among men who have sex with men in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2017;65:756–763.
21. Urra E, Alkorta M, Sota M, et al. Orogenital transmission of *Neisseria meningitidis* serogroup C, confirmed by genotyping technique. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2005;24, iss.1:51–53.
22. Васильева М.Ю., Ковалык И.П. Менингококковый уретрит. Случай из практики. В: Тезисы научн. работ II Всероссийского Конгресса дерматовенерологов, СПб, 25–28 сент. 2007, с. 125.
23. Jannic A, Mammeri H, Larcher L, et al. Orogenital transmission of *Neisseria meningitidis* causing acute urethritis in men who have sex with men. *Emerg. Infect. Dis.* 2019;25(1):175–176.
24. Johnwich KO, Zhou J, Law DRS, et al. Invasive potential of noncapsulated disease isolates of *Neisseria meningitidis*. *Infect. Immun.* 2012;80(7):2346–2353.
25. McNamara A, Topaz N, Wang X, Hariri S, et al. High risk for invasive meningococcal disease among patients receiving Eculizumab (Soliris) despite of meningococcal vaccine. *MMWR*. 2017;66(27):734–737.
26. Гонококковая инфекция. Клинические рекомендации. 2019.

References

1. Kostyukova NN, Bekhalo VA. Meningococcal carriage: epidemiology, causative agent, inducing of immune protection. *Epidemiology and Vaccinal prevention*. 2017;(5):87–97. (in Russ.).
2. Taubin HL, Landsberg L. Gonococcal meningitis. *New Engl. J. Med.* 1971;285(9):504–505.
3. Faur YC, May PC. Isolation of *Neisseria meningitidis* from patients in a gonorrhoea screen program: four year survey in New York City. *Am. J. Publ. Health*, 1981;71(1):53–58.
4. Bazan JA, Turner AN, Kirksaldy RD, et al. Large cluster of *Neisseria meningitidis* urethritis in Columbus, Ohio, 2015. *Clin. Infect. Dis.*, 2017;65(1):92–99.
5. Order of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation of 08.20.2003 No. 415 «On approval of the protocol for the management of patients «gonococcal infection». (in Russ.).
6. Faur YC, Weisburd MH, Wilson ME. Isolation of *Neisseria meningitidis* from the genito-urinary tract and anal canal. *J. Clin. Microbiol.* 1975;2(3):178–182.
7. Givan KF, Thomas BW, Johnston AG. Isolation of *Neisseria meningitidis* from urethra, cervix and anal canal: further observations. *Brit. J. Vener. Dis.* 1977;83: 109–112.
8. Wilson APR, Wolff J, Atia W. Acute urethritis due to *Neisseria meningitidis* group A acquired by orogenital contact. *Genitourin. Med.*, 1989, 65:122–123.
9. Maini M, French P, Prince M. Urethritis due to *Neisseria meningitidis* in a London genitourinary medicine center population. *Int. J. STD AIDS*. 1992;3(6):423–425.
10. Bazan JA, Peterson AS, Kirksaldy RD, et al. Notes from the field: increase of Nm-associated urethritis among men at two central clinics – Columbus, Ohio, and Oakland City, Michigan. 2015. *MMWR*, 2016;65(21):550–552.
11. DoVan-Livengood JM, Miller JK, Martin LE, et al. Genetic basis for nongroupable *Neisseria meningitidis*. *J. Infect. Dis.* 187(10):1626–1628.
12. Rethless AC, Kretz CB, Chang H-Y, et al. Expansion of a urethritis-associated *Neisseria meningitidis* clade in the United States with concurrent acquisition of *N. gonorrhoeae* alleles. *BMC genomics*. 2018.23(2):326.
13. Taha M-Kh, Claus H, Verrier F, et al. Evolutionary events associated with an outbreak of meningococcal disease in men who have sex with men. *PLoS One*. 2016 May 11;11(5):e0154047. doi: 10.1371/journal.pone.0154047. eCollection 2016.
14. Tzeng YL, Bazan JA, Turner AN, et al. Emergence of a new *Neisseria meningitidis* clonal complex 11 lineage 11.2 clade as an effective urogenital pathogen. *PNAS* 2017;114(16):4237–4242.
15. Toh E, Gangaja Dh, Batteiger BE, et al. *Neisseria meningitidis* ST11 complex isolates associated with nongonococcal urethritis, Indiana, USA, 2015–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017;23(2):336–339.
16. McIntosh DV, Garey V, Tonneato D, et al. Prevention of rare diseases: how revolutionary techniques can help vulnerable individuals – the example of serogroup B meningococcal infection. *Ther. Adv. Vaccines*. 2015;3(1):13–23.
17. Blackwell IC, Young H, Bain ShSR. Isolation of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria catharralis* from the genitorurinary tract and anal canal. *Brit. J. Vener. Dis.* 1978;54(1):41–44.
18. Kratz MM, Weiss D, Ridpath A, et al. Community-based outbreak of *Neisseria meningitidis* serogroup C infection in men who have sex with men, New York City, New York, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2015;21(8):1379–1386.
19. Nadura S, Foo Ch, Ngo V, et al. Outbreak of serogroup meningococcal disease primarily affecting men who have sex with men – Southern California, 2016. *MMWR*, 2016;65(35):939–940.
20. Folaramni TA, Kretz CB, Kamiya H, et al. Increased risk for meningococcal disease among men who have sex with men in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2017;65:756–763.
21. Urra E, Alkorta M, Sota M, et al. Orogenital transmission of *Neisseria meningitidis* serogroup C, confirmed by genotyping technique. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2005;24, iss.1:51–53.
22. Vasilieva MYu, Kovalyk IP. Meningococcal urethritis. A practice case. In: The Theses of II All-Russian dermatologists Congress, 2007, St-Petersburg: 125. (in Russ.).
23. Jannic A, Mammeri H, Larcher L, et al. Orogenital transmission of *Neisseria meningitidis* causing acute urethritis in men who have sex with men. *Emerg. Infect. Dis.* 2019;25(1):175–176.
24. Johnwich KO, Zhou J, Law DRS, et al. Invasive potential of noncapsulated disease isolates of *Neisseria meningitidis*. *Infect. Immun.* 2012;80(7):2346–2353.
25. McNamara A, Topaz N, Wang X, Hariri S, et al. High risk for invasive meningococcal disease among patients receiving Eculizumab (Soliris) despite of meningococcal vaccine. *MMWR*. 2017;66(27):734–737.
26. Gonococcal infection. Clinical recommendations. 2019. (in Russ.).

Об авторах

- **Наталья Николаевна Костюкова** – д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи». +7 (499) 193-61-51, +7 (499) 249-69-24, nathakos@mail.
- **Владимир Андреевич Бехало** – к. м. н., ведущий научный сотрудник ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи. +7(916)935 41 42, bekhalo@gamaleya.org.

Поступила: 07.02.2020. Принята к печати: 21.07.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Natalya N. Kostyukova** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Leading Researcher at N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation. +7 (499) 193-61-51, +7 (499) 249-69-24, nathakos@mail.
- **Vladimir A. Behalo** – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher at N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation. + 7(916)935 41 42, bekhalo@gamaleya.org.

Received: 07.02.2020. Accepted: 21.07.2020.

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-69-77>

Гидробионты и растения – альтернативные хозяева возбудителей сапронозов

В. И. Пушкарева*

ФГБУ «НИЦ эпидемиологии и микробиологии им Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России

Резюме

Актуальность. Природная очаговость сапронозов охарактеризована с экологических позиций. Многие патогенные бактерии (вибрионы, легионеллы, иерсинии, листерии) связаны общей экологической чертой – возможностью автономно существовать во внешней среде. **Цель.** Аналитический обзор сфокусирован на гидробионтах и растениях как альтернативных хозяевах патогенных бактерий, способных жить в водных и почвенных экосистемах. Приводятся экспериментальные доказательства их способности колонизировать амеб, инфузорий, а также ткани растений. **Заключение.** Обсуждается роль ассоциаций патогенов с другими организмами в формировании резервуаров возбудителей инфекций и минимизация риска их распространения во вторичных (антропогенных) очагах.

Ключевые слова: *Vibrio*, *Legionella*, *Yersinia*, *Listeria monocytogenes*, почвенные, водные экосистемы, гидробионты, растения, биоактивность

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Пушкарева В. И. Гидробионты и растения – альтернативные хозяева возбудителей сапронозов. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):69–77. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-69-77>.

Благодарность

Автор приносит благодарность профессору И. С. Тартаковскому за консультацию по проблеме эпидемиологии легионеллеза.

Hydrobionts and Plants as Alternative Hosts for Sapronosis Pathogens

VI Pushkareva

N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Abstract

Relevance. Specific epidemiology of sapronotic (soilborne, waterborn) bacteria is characterized from the ecological point of view. The characteristic feature of soil-borne, water-born pathogens is an ability to exist autonomously in the environment. **Aims.** This analytical review is focused on hydrobionts and crops as alternative hosts for several soilborne and waterborne pathogenic bacteria (*Vibrio*, *Legionella*, *Yersinia*, *Listeria monocytogenes*). **Conclusions.** Published experimental results evidence capabilities of human and animal pathogens to colonize protozoan and plant tissues. Novel approaches are discussed to minimize risks of infection spreading.

Keywords: soilborne, waterborne pathogens, hydrobionts, *Vibrio*, *Legionella*, *Yersinia*, *Listeria monocytogenes*, crop plants, bioactivity. No conflict of interest to declare.

For citation: Pushkareva VI. Hydrobionts and Plants as Alternative Hosts for Sapronosis Pathogens Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2020;19(3):69–77. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-69-77>.

Acknowledgment

The author is grateful to Professor I.S. Tartakovsky for a consultation on the epidemiology of legionellosis.

Связь заразных болезней человека с почвой и водой известна со времен М. Петтенкофера и Н. Ф. Гамалеи, который писал: «Вибрионы способны размножаться в водоемах и вступать в симбиоз с экзквизитно водяными обитателями» (1956 г.).

От идеи В. И. Терских [1], высказанной более 60 лет назад, до теоретического обоснования принципов

выделения патогенных микроорганизмов, связанных с почвой и водой, в отдельный экологический класс – природно-очаговых сапронозов, прошел длительный период накопления фактов, прежде всего научной школой Г. П. Сомова и В. Ю. Литвина [2–5].

Адаптации патогенных бактерий (иерсиний, листерий, псевдомонад) к низким температурам среды

* Для переписки: Пушкарева Валентина Ивановна, д. б. н., ведущий научный сотрудник НИЦ эпидемиологии и микробиологии им Н. Ф. Гамалеи, 123182, Москва, ул. Гамалеи, 18. +7(916)6541967, vpushkareva@inbox.ru. © Пушкарева В. И.

** For correspondence: Pushkareva Valentina, Doct.Sci. (biol), Leading Researcher at N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, 18 Gamaleya, St., Moscow, 123182, Russian Federation. +7(916)6541967, vpushkareva@inbox.ru. © Pushkareva VI.

Таблица 1. Типы сапронозов (экологический принцип)
Table 1. Types of sapronoses (environmental principle)

Водные Aquatic	Почвенные Soil
Холера, легионеллез, мелиоидозы (сап), аэромоназы Cholera, legionellosis, melioidosis (gladders), aeromonoses	Клостридиозы (столбняк, газовая гангрена, ботулизм), сибирская язва (?), чума (?), висцеральные микозы, псевдотуберкулез, листериоз, лепра Clostridiosis (tetanus, gas gangrene, botulism), anthrax (?), plague (?), visceral mycoses, pseudotuberculosis, listeriosis, leprosy

свидетельствуют об их психрофильности – способности накапливать биомассу при температурах 8–12 °С, активизировать ряд факторов патогенности. Во внешней среде возбудители сапронозов характеризуются олиготрофией и хемоавтотрофным типом метаболизма, усваивая углерод и водород из неорганических соединений. Однако, попадая в организм теплокровных хозяев, они проявляют себя как гетеротрофы.

Наряду с адаптацией к непростым, изменчивым абиотическим условиям почв и водоемов, существование бактериальных популяций определяется сложными биоценотическими связями в среде обитания.

Совершенно очевидно, что возбудители сапронозов – полноправные компоненты естественных экосистем в полной мере отвечают критерию природно-очаговых инфекций [5]. Вместе с тем они обладают существенными особенностями, из которых основными мы считаем:

- первичная и основная среда обитания возбудителей – почвы и водоемы, откуда они могут проникать в наземные экосистемы;
- полигостальность возбудителей сапронозов – беспрецедентно широкий круг потенциальных хозяев в почвенных, водных, наземных экосистемах;
- полипатогенность – для простейших, многих беспозвоночных, позвоночных животных, человека и даже растений [6–8] – общая стратегия выживания в окружающей среде – природной либо трансформированной человеком; широкие адаптивные возможности микроорганизмов при смене среды обитания.

Природные резервуары возбудителей водных сапронозов

Теория антропоцентризма в отношении многих инфекционных болезней, передающихся исключительно от человека к человеку, существенно трансформировалась под давлением неопровержимых доказательств, что почвы и водоемы – первичная среда обитания многих возбудителей, а не их «кладбище» [1]. Эпидемиология природно-очаговых сапронозов рассматривается в новой парадигме – обязательной связи патогенных микроорганизмов с окружающей средой. Самым ярким примером является холера, известная человечеству около 3 тысяч лет и не теряющая своей

актуальности и по сей день. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно регистрируется от 1,3 до 4,0 млн заболевших, из которых умирают от 21 000 до 143 000 человек [9]. Опустошительные, уносившие миллионы жизней эпидемии, носившие пандемический характер до эры антибиотиков, однозначно связывались с климатом, зависимостью населения от социально-экономических условий, миграционными потоками, но только не с тесными симбиотическими связями возбудителя с сочленами биоценозов.

Экологическая обусловленность эпидемий холеры находит все больше подтверждений при натуральных исследованиях: холерные вибрионы (известно более 200 серогрупп) – автохтонные представители водных экосистем, а не исключительно – следствие заноса больными людьми и инфицирование водоемов сточными водами. Они могут быть симбиотически связаны с гидробионтами разных трофических уровней: фитопланктоном, водорослями, а также простейшими, копеподами, моллюсками, червями, рыбами и др., что обеспечивает им возможность миграции по трофическим цепям в биоценозах [10,11]. По образному выражению R. Colwell: «Эпидемиология не может оставаться глухой к экологии вибрионов в водоемах, особенно к их связям с флорой и фауной» [12,13].

Еще в 1983 г. доказана корреляционная связь между сезонными колебаниями численности холерных вибрионов и копеподами (рачками); хитин копепод обеспечивает питание и размножение вибрионов, обладающих ферментом хитиназой, а муциназа, продуцируемая бактериями, увеличивает их адгезивные свойства. Два эпидемических варианта *V. cholera*, 01 и 0139 сероваров, благодаря высокой адгезивной способности имеют предпочтения в прикреплении к копеподам *Eurytemora*, *Acartia*, которые являются доминирующими видами в заливах Индийского океана [11]. Предполагается, что между популяциями устанавливаются симбиотические отношения по типу «комменсализм». Комплекс взаимодействий вегетативных форм вибрионов с гидробионтами есть процесс их циркуляции в популяциях естественных хозяев (эпизоотический процесс) с «горизонтальной» и «вертикальной» передачей возбудителя в водной экосистеме.

Достижения молекулярной биотехнологии показали, что эти бактерии могут быть обнаружены

за пределами эндемичных регионов (в средних широтах – в отсутствие заноса), где ранее никогда не выделялись. Экологическая стойкость возбудителя холеры в водной среде обеспечивается многими путями: адаптивной регуляцией генов (активация системы секреции 6 типа – T6SS); переходом в покоящуюся форму; формированием биопленок на биотических и абиотических поверхностях; конкурентоспособностью при взаимодействии с множеством других организмов в биоценозе. Холерный вибрион может выживать при воздействии таких стрессоров, как голод, температура и колебания солености, а также проявляет устойчивость к фагоцитозу, регулируемую геном *ToxR*, при постоянном хищничестве гетеротрофных простейших. Важный белок, кодируемый геном *ToxR*, работает как переключатель, изменяя в зависимости от внешних условий экспрессию генов, кодирующих факторы вирулентности. Такая регуляция дает *V. cholerae* возможность изменять набор синтезируемых белков соответственно потребностям, меняющимся при переходе из одной среды в другую, что обеспечивает эволюционное преимущество в биоценозе [14–18].

Механизм сохранения холерных вибрионов в межэпидемический период – единственный вопрос, который не дискутируется. Местом резервации могут быть только водные экосистемы, так как в организме больного и носителя возбудитель сохраняется 1–2 недели. Микробные сообщества в естественной среде существуют благодаря феномену формирования биопленок [19] и способности патогенов переходить из вегетативного в «покоящиеся» состояние при стрессовых условиях (температура, голод, соленость и пр.) [12,15].

Простейшие

Последние десятилетия на клетках простейших как на удобных и репрезентативных биологических моделях исследуют симбиотические отношения и процессы фагоцитоза патогенных для человека, животных и растений бактерий, способных к длительному автономному существованию в окружающей среде [7,20].

Протисты (амебы, инфузории) широко распространены в природе, являясь обязательным и наиболее массовым компонентом почвенных и водных экосистем. Интенсивное размножение, короткое время генерации, высокая численность популяций, длительное сохранение в форме покоящихся стадий (цист) и возможность распространения определяют весьма важную роль простейших в биоценозах почв и водоемов, а также их потенциальную значимость в качестве природных резервуаров бактерий, патогенных для человека, животных и растений [6,20].

Установлено, что протозойно-бактериальные ассоциации являются эпидемически значимым резервуаром не только для холерных вибрионов, численность которых значительно выше, чем вне клетки-хозяина.

Подобная закономерность наблюдается и при изучении легионелл [22], иерсиний, в том числе чумного микроба, псевдомонад, буркхолдерий. Патогены сохраняются не только в трофозитах, но и в цистах простейших, которые надежно защищают их от стрессовых условий внешней среды [6,20].

Из широкого спектра патогенных бактерий, способных к жизнедеятельности в окружающей среде без присутствия теплокровных хозяев, особым образом выделяется *Legionella pneumophila*, термофильная бактерия, открытая в 1977 г. после вызванной ею в Калифорнии вспышки пневмонии со смертельными исходами. Типичный водный сапроноз, экология которого изучена так же детально, как и холера, сразу однозначно связывался с биотой водоемов.

Поиск основных хозяев легионелл в природе привел к обнаружению амёб родов *Acanthamoeba* и *Naeglaria*, которые оказались идеальной моделью для анализа симбиотических отношений в протозойно-микробной ассоциации [21]. Автор обратил внимание на общие черты фагоцитоза у амёб и альвеолярных макрофагов (мишень при развитии инфекции) – образование репликативных вакуолей, что подтверждено на морфологическом уровне. Это свидетельствует о водных и почвенных экосистемах как первичной среде обитания *L. pneumophila*, а позднее доказано для целого ряда патогенных микроорганизмов [6]. В настоящее время показано биохимическое, генетическое сходство двух паразитических систем: «легионеллы – амёбы» и «легионеллы – человек». Общие группы генов *Dot/Icm*, *mip* и их продукты ответственны за реализацию основных факторов патогенности, используемых легионеллами при взаимодействии с клеткой-хозяином (системы секреции II и IV типов, порообразующий токсин, пили IV типа, флагеллы и др.) Натурные и лабораторные эксперименты доказали, что популяция *L. pneumophila* линейно зависима от увеличения численности в зоопланктоне простейших (амёб и инфузорий), которые признаны основными резервуарными хозяевами; максимальной концентрации возбудитель достигал при «цветении» воды [16,17]. Зеленые и сине-зеленые (цианобактерии) водоросли, составляющие значительную часть фитопланктона и вступающие в симбиотические отношения со многими патогенными микроорганизмами, значительно влияют на темпы роста легионелл, которые связаны с фотосинтетической активностью водорослей (см. далее).

Люди никогда не заражаются легионеллезом в естественных водоемах. Эпидемиологические проявления этой тяжелой инфекции (летальность до 25%) наблюдаются лишь при наличии рукотворных местообитаний легионелл – систем кондиционирования воздуха, теплоснабжения, аэрации, вентиляции, а также бассейнов, круизных лайнеров и прочих «благ» цивилизации. Наличие чувствительного контингента во многом определяет

не только частоту заболеваемости, но и тяжесть течения легионеллезной инфекции [22,23].

Вспышки легионеллеза регулярно регистрируются в высокоразвитых странах, (чему способствует высокий уровень лабораторной диагностики) и всегда носят резонансный характер. Аналитический обзор за 12 лет (2006–2017 гг.) вспышек болезни легионеров и лихорадки Понтиак зафиксировал 136 эпидемических проявлений инфекции, из которых 115 были тяжелыми, и, в основном, резервуар и источник возбудителя связан с системами водоснабжения зданий и бассейнами/спа [23].

На примере экспериментальных моделей протозойно-бактериальных ассоциаций, включающих грамотрицательные *Yersinia pseudotuberculosis* либо грамположительные *Listeria monocytogenes*, нами продемонстрированы и визуально закреплены процесс и характер взаимодействия патогенов, принадлежащих к разным таксонам, с реснитчатыми инфузориями *Tetrahymena pyriformis* и амебами *Amoeba proteus*.

В условиях, приближенных к естественным (почвенная вытяжка из иловато-болотной почвы озера Неро) и при оптимальной температуре 25 °C ассоциация длительно (2 месяца) находилась в динамическом равновесии: численность иерсиний составляла 10³ КОЕ/мл, а инфузорий – 1000 особей/мл, что свидетельствует об установлении длительных симбиотических отношений несмотря на хищничество простейших с частичным «выеданием» части бактериальной популяции.

Методом трансмиссионной электронной микроскопии выявлены скорость и интенсивность фагоцитоза в динамике – от 5 минут до 24 часов. Бактерии поглощались тетрахименами с первых минут контакта, и интенсивность фагоцитоза возрастала на протяжении 2–4 часов, причем количество пищеварительных вакуолей (фагосом) в отдельных особях достигало 30–40. Визуальный ряд поэтапно зафиксировал внутриклеточные события и судьбу поглощенных иерсиний.

Через 3–6 часов контакта фагосомы содержали бактериальные клетки иерсиний с разной степенью деструкции: часть субпопуляции полностью утилизировалась фаго-лизосомой; другая часть была представлена сферопластами и протопластами, а единичные, устойчивые к перевариванию иерсинии через разрывы клеточной стенки выходили в окружающую среду. Через 24 часа у многих инфузорий наблюдался лизис эндоплазмы, нарушение структуры митохондрий и других органелл, однако оставались активные особи, способные к делению [6,7]. Необходимо было подтвердить универсальный характер внутриклеточных событий на более сложной протозоологической модели – *Amoeba*.

Уже через час амебы заполнялись многочисленными фагосомами, но при этом псевдоподии под воздействием вирулентных *L. monocytogenes* EGD_e укорачивались или утрачивались, а сами

клетки уменьшались в размерах, ошаривались и резко замедляли подвижность. Тот же эффект наблюдался при контакте *A. proteus* и *A. amazon* с *L. innocua phly*. Через 3 часа наружные морфологические изменения в культурах амеб сохранялись, однако световая микроскопия деструкции клеток не выявила.

Напротив, *L. monocytogenes* EGD – hly (с децелией листериолизина) и сапрофитический вид *L. innocua* активно фагоцитировались амебами обоих видов, которые через час ошаривались, формировали по несколько десятков пищеварительных вакуолей, но не испытывали цитопатогенного действия со стороны бактериальных популяций, которые в дальнейшем полностью утилизировались в течение 2–3 суток, то есть имел место завершённый фагоцитоз (графики не приводятся), что свидетельствует о межпопуляционных взаимоотношениях по типу «хищник – жертва». Физиологические реакции амеб были обратимыми (восстанавливались длина псевдоподий, форма, подвижность), как это имеет место при кормлении простейших непатогенными бактериями [20]. Сравнение моделей *T. pyriformis* с *A. proteus*, *A. amazon* по чувствительности к высоковирулентным штаммам листерий при прямом воздействии бактериальных популяций указывает на более выраженный цитотоксический эффект листериолизина O на культуры амеб в сравнении с инфузориями. Мы связываем это с принципиально иным способом захвата пищевых частиц с помощью филаментного аппарата, когда «атака» патогенов происходит по огромной поверхности амеб, а не через перистом – единственный вход бактерий в клетку инфузории [7].

Эти процессы свидетельствуют об аналогии событий в пищеварительных вакуолях простейших (инфузориях и амебах) и макрофагах млекопитающих, где фагоцитоз также носит незавершённый характер. Впервые такие закономерности были установлены при взаимодействии легионелл с амебами [21].

Благодаря длительной истории ко-эволюции бактерий и протист реализуются разные механизмы защиты различных видов патогенных бактерий от «выедания» простейшими. Исследования на ультраструктурном уровне убедительно продемонстрировали, что внутриклеточные события взаимодействия патогенных бактерий с фагоцитирующими простейшими осуществляются по трем разным сценариям (см. выше) [4,6,16]. *V. cholera* после фагоцитоза не только сохраняются, но и размножаются внутри клетки-хозяина без ее гибели [15]. Напротив, *L. pneumophila* после поглощения амебами (инфузориями) разрушают фаго-лизосомы, что приводит к гибели клетки-хозяина (киллинг). *Chlamydiae* – облигатные внутриклеточные паразиты становятся эндосимбионтами амеб и инфузорий. Высоковирулентные штаммы иерсиний предотвращают слияние фагосомы и лизосомы

выходят в цитоплазматическое пространство клетки, разрушая ее структуры.

Изложенные данные свидетельствуют о том, что сообщества водных (почвенных) организмов связаны между собой тесными взаимодействиями, в том числе симбиотическими связями, в круг которых вовлекаются и патогенные бактерии – возбудители болезней животных и человека. В этой связи наиболее принципиальными представляются следующие положения:

- Наблюдается принципиальная аналогия внутриклеточных событий в пищеварительных вакуолях простейших (амеб и инфузорий) и в профессиональных фагоцитах теплокровных, что, очевидно, свидетельствует о первичности простейших эукариот как хозяев возбудителей сапронозов.
- Разрушение клетки-хозяина в результате цитопатогенного воздействия иерсиний или листерий с их выходом в окружающую среду (условия экспериментов) имеет место, по всей видимости, в природе при циркуляции патогенов среди сочленов почвенных и водных биоценозов.

По сути, моделируется эпизоотический процесс с реализацией как горизонтальной, так и вертикальной передачи возбудителя.

Длительное существование возбудителей сапронозных инфекций в почве (воде), возможность миграции бактерий по пищевым цепям трофической пирамиды с последующим заражением наземных животных и человека определяет высокую экологическую и эпидемиологическую актуальность окружающей среды.

Низшие и высшие растения

Антропогенное воздействие на окружающую среду, приводящее к эвтрофикации водоемов, потребовало более пристального изучения альго-бактериальных ассоциаций, сочленами которых являются не только вибрионы, но и легионеллы, аэромонады, иерсинии, условно патогенные возбудители.

Фитопланктон, макроводоросли и высшие растения (водный гиацинт), продуцирующие мегатонны биомассы служат триггерами не только холеры, но и множества диарейных болезней [12–15]. Маннитол-специфические ферменты, являющиеся продуктами фотосинтеза микро- и макроводорослей, секретируются в высокой концентрации и стремительно транспортируются в вибрионы, а также в другие патогенные микроорганизмы, которые используют их как источник углерода. Они выполняют функцию осмопротекторов при резких перепадах солености воды и играют большую роль в формировании биопленок, прикрепляясь даже к единичным клеткам макроводорослей [17,24].

Наши исследования альго-бактериальных ассоциаций, включающих малоизученные возбудители – иерсиний, листерий, сальмонелл, в модельных условиях, приближенных к естественным

(почвенная вытяжка, прудовая вода), показали, что популяции длительно (до трех месяцев) поддерживались в вегетативном состоянии в присутствии живых клеток *Scenedesmus quadricauda* и *Anabena spp.*, а продукты их метаболизма, напротив, угнетали патогены [33].

Листерии из вегетативной формы переходили в некультивируемое, покоящееся состояние значительно быстрее (после 21 суток), причем при низкой температуре от 5 до 10° С, что согласуется с работами R. Colwell [13] и многими другими по экологии холерных вибрионов [15]. Опыты на животных подтвердили сохранение потенциала вирулентности у «спящих» микробов при их переходе в некультивируемую форму, что проявлялось в манифестации инфекции благодаря реверсии бактериальных клеток при пассажах через организм теплокровных моделей – морских свинок, мышей [5].

Таким образом, истоки проблемы сапронозов находятся в природных экосистемах; взаимодействия возбудителей с самыми массовыми представителями фито- и зоопланктона выявили общие закономерности существования бактериальных популяций. Протистофауна в биоценозах играет роль основного резервуара патогенных бактерий: каждая клетка в популяции амеб/инфузорий является «троянским конем», который в соответствующих экологических условиях обеспечивает возбудителям беспрепятственный выход в окружающую среду [4–7]. На примерах холеры и легионеллеза выявлено, что эпидемические проявления водных сапронозов наиболее значимы при формировании вторичных очагов инфекций, неразрывно связанных с трансформирующей деятельностью человека. Легионеллез причислен к болезням цивилизации, который возник исключительно в связи с техническим прогрессом и наиболее актуален в высоко развитых странах.

Растения – альтернативные хозяева возбудителей сапронозов

Новое междисциплинарное направление по изучению воздействия нефитопатогенных микроорганизмов на растения возникло в связи с регулярными вспышками пищевых инфекций, связанных с употреблением листовых агрокультур либо салатов из капусты, моркови, мангольда и пр. [3,4,25–32].

Наиболее значимым в этом плане является псевдотуберкулез – инфекция, актуальная для разных географических зон России, стран Западной Европы, Америки, Японии, связана, главным образом, с употреблением овощных культур. Эпидемиологическая и клиническая дихотомия является загадкой для ученых: спорадическая заболеваемость регистрируется повсеместно (гастроэнтериты), а в России, Японии, Канаде, Финляндии, Северной Европе – вспышки различной интенсивности [26]. На Дальнем Востоке псевдотуберкулез

имеет специфические клинические проявления, что отразилось в идентификации болезни как дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (ДСЛ) [27]; заболеваемость составляет от 4,2 до 15 на 100 тыс. человек.

Важно отметить, что зарубежные исследователи, не изучая экологию возбудителя, однозначно связывают заболевание с приемом овощей, которые в процессе хранения контаминируются грызунами. Трудно представить, какое количество экскрементов крыс и мышей необходимо, чтобы «загрязнить» тысячи тонн овощей в хранилищах.

Кардинально от этой позиции отличаются положения отечественной эпидемиологии, которая фундаментально опирается на многочисленные полевые и лабораторные исследования, свидетельствующие о том, что иерсинии являются автохтонными сочленами почвенных экосистем в природных или антропогенных очагах [5]. Сравнение микробного пейзажа овощехранилищ (непроницаемых для грызунов) с индивидуальными погребами и подвалами, куда закладывался на зимнее хранение урожай овощей, выявило наличие иерсиний разных видов в 12% проб при централизованном хранении и единичные находки в частных хозяйствах [4].

Расшифрованы многочисленные и постоянные вспышки псевдотуберкулеза (дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки) на Дальнем Востоке, которые в 97,5% случаев возникали после употребления овощей, не подвергавшихся термической обработке. Эндемичность псевдотуберкулеза, прежде всего, обусловлена уникальными экологическими особенностями дальневосточного региона: совокупностью климатических, абиотических и биотических факторов, которые сформировали самый большой ареал природно-очаговых сапронозов, где помимо иерсиний циркулируют многие возбудители: листерии, псевдомонады и условно патогенные представители семейства *Enterobacteriaceae*.

Особого внимания заслуживают результаты изучения взаимоотношений возбудителя псевдотуберкулеза с растениями на популяционном, клеточном и ультраструктурном уровнях, которые дали полную картину этого процесса. При этом инфицирование каллусов (клеточных культур) капусты не ограничивалось поверхностной контаминацией, а бактерии колонизировали ткани; численность *Y. pseudotuberculosis* возрастала в течение 3 суток в 100 тыс. раз и сохранялась до 60 суток. Кроме того, путем трансмиссионной электронной микроскопии впервые зарегистрировано фитопатогенное воздействие иерсиний, не относящихся к возбудителям болезней растений, на растительные клетки-мишени [32].

Позднее показано, что и другие возбудители «пищевых» инфекций – *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Campylobacter* и пр. (не относящиеся к фитопатогенам) способны

проникать и колонизировать растительные клетки. Бактерии регулярно выделяются в природных и урбанизированных экосистемах (почвы, водоемы, бассейны, субстраты агрокомплексов, пруды орошения, пищевые предприятия и пр.), что свидетельствует об их способности к автономному существованию во внешней среде с сохранением потенциала вирулентности для человека, к делению и воспроизведению популяции [25,34,37].

Особое место в этом ряду занимают листерии, до недавнего времени причислявшиеся исключительно к возбудителям зоонозных инфекций. Листерииоз, относящийся, по определению Всемирной организации здравоохранения [35], к особо важным пищевым инфекциям, характеризуется высокой летальностью – до 43%, а у пожилых пациентов – до 90%, обусловленной проникновением в желудочно-кишечный тракт грамположительных бактерий *L. monocytogenes*, убиквитарно распространенных на всех континентах.

Эта инфекция, занимающая третье место в США после ботулизма и вибриоза (*Vibrio vulnificus*), является фатальной по своим последствиям. Например, вспышку 2011 г. (штат Колорадо, США), когда заболели 147 человек и 33 из них, несмотря на лечение антибиотиками, умерли, связывали с употреблением дынь. В Швеции при некоторых вспышках погибало 90% заболевших пожилых людей, что свидетельствует о неэффективности антибиотиков [36].

Впервые проведенный специальной группой экспертов под эгидой ВОЗ глобальный (по данным 67 стран) эпидемиологический метаанализ заболеваний с количественной оценкой перинатального и неперинатального листериоза однозначно связал их с трудностью контроля биологической безопасности в пищевой промышленности и выявлением листерий в антропогенно преобразованной среде. Несмотря на беспрецедентные по объему статистические материалы, вопросы о причинах, механизмах укоренения и путях распространения возбудителей в современных техногенных очагах авторами отчета даже не формулировались [36]. Россия остается белым пятном на эпидемиологической карте мира (статистика по листериозу и энтерогеморрагическому эшерихиозу – другой смертельной токсикоинфекции в материалах ВОЗ отсутствует), и только отдельные научные группы (Москва, Владивосток) занимаются фундаментальными основами этой проблемы.

Показано, что *L. monocytogenes* EGD при контаминации вегетирующих растений – петрушки, листовых салатов, капусты демонстрируют высокую кинетику роста при посевах зеленой массы в течение 7 суток. Углубленные исследования на клеточном и ультраструктурном уровнях клеточных культур (каллусов) через 2 суток выявили цитопатогенное воздействие вирулентных листерий на растительные клетки с разрушением клеточных стенок, локализацией бактерий в вакуолях и последующим некрозом. Гистологические срезы тканей показали

глубокое проникновение листерий (до 32 мкм) и их значительные скопления. Потенциал вирулентности возбудителя сохранялся на протяжении опыта. Вегетирующие растения по внешним признакам значительно отличались от интактных (пожелтение, некроз листьев и пр.). В контрольных опытах с аттенуированным штаммом *L. monocytogenes* EGD Δ hly и свободноживущими (сапрофитическими) *L. innocua*, несмотря на колонизацию растений бактериями, фитопатогенного воздействия не обнаружено, что подтверждается цитологическими и гистологическими исследованиями [25,34].

Фундаментальные исследования симбиотических связей сельскохозяйственных растений с патогенными бактериями фрагментарны и малочисленны, в основном они констатируют, что многие энтеропатогены используют их в качестве альтернативных хозяев наряду с человеком и животными [25]. Удалось расшифровать молекулярно-генетические механизмы взаимодействия патогенных бактерий с растительным организмом-хозяином, претендующие на универсальность характера некоторых молекулярных основ патогенности грамотрицательных бактерий, прежде всего, за счет схожести структуры системы секреции III типа (ССТТ) у фитопатогенных бактерий и возбудителей заболеваний человека и млекопитающих животных, которые позволяют реализовать их потенциал патогенности. ССТТ называют «молекулярным шприцем», т. к. эта система секреции состоит из полой «иглы» (пиля), которая закреплена на так называемом «базальном теле», пронзающем цитоплазматическую и наружную мембраны бактериальной клетки, и транслокаторного комплекса, который находится на другом конце иглы и встраивается в цитоплазматическую мембрану клетки-мишени. Основная разница в структуре ССТТ патогенов растений и животных является длина «иглы»: если для взаимодействия с клетками млекопитающих достаточно длины 40–80 нм, то для преодоления клеточной стенки растительной клетки необходима игла порядка 1 мкм. Эффекторный и структурный белки ССТТ дают очевидный пример сходства молекулярных основ патогенности у возбудителей болезней человека, животных и растений [31].

Важно отметить, что у грамположительных листерий основной фактор патогенности – листериолизин О – претендует на универсальность, что подтверждается экспериментами (см. выше): при взаимодействии патогенных листерий с различными эукариотическими организмами – высшими и низшими (амебами, инфузориями), а также с растениями, наблюдаются необратимые морфологические изменения, выявленные на ультраструктурном уровне [34].

Влияние дикорастущих растений на популяции патогенов

Остаются неизвестными взаимодействия возбудителей инфекций с растениями природных

экосистем. Развитие этого направления требует нестандартных подходов по конструированию вегетирующих моделей трансформированных агрокультур, путем использования генов антимикробных пептидов (АМП) растений, устойчивых к патогенам человека и животных. На сегодняшний день таких модельных растений не существует.

Обзор современной литературы, однако, свидетельствует о масштабных исследованиях дикорастущих растений-эндемиков, произрастающих в странах с жарким климатом (Африка, Азия, Латинская Америка) и в Европе как ингибиторов патогенных микроорганизмов различных семейств, а также источников для получения антиоксидантных и других биологически активных веществ [8].

Детально изучен фитохимический состав экстрактов, который был представлен алкалоидами, эфирными маслами, гликозидами, терпеноидами, сахарами, сапонинами, танинами, флавоноидами, индолом. В диско-диффузионном тесте испытали полученные субстанции на бактериальных изолятах, полученных от больных с тяжелыми случаями диареи. Экстракты показали высокую и среднюю бактерицидную активность: зоны задержки роста патогенов колебались от 16 до 25 мм, что сопоставимо с коммерческими антибиотиками, однако *Vibrio cholerae* слабо ингибировались даже при высоких концентрациях. В странах, эндемичных по холере, рекомендовано включать экстракты лекарственных растений как интегративные компоненты в дополнение к антибиотикотерапии, используемой в алгоритмах ведения больных с острыми кишечными инфекциями.

Впервые было проведено сравнение биологической активности антибиотиков, стандартно применяемых в этиотропной терапии листериоза и энтерогеморрагического эшерихиоза (ампицилина, гентамицина и цефтриаксона), с экстрактами лекарственных растений России, которое в тестах *in vitro*, выявило их дозозависимое 6-кратное преимущество [8]. Таким образом, поиск лекарственных растений разных географических зон России открывает перспективы для создания трансгенных растений, в том числе сельскохозяйственного назначения, устойчивых к возбудителям болезней человека, и получение на их основе новых субстанций с антимикробными эффектами.

Заключение

Мощное антропогенное преобразование окружающего мира привело к интенсификации многообразных процессов глобализации. После уничтожительных эпидемий прошлых веков современная эпидемиология все чаще сталкивается с болезнями «цивилизации» (легионеллез, листериоз, иерсиниозы и пр.), которые несет с собой технический прогресс – спутник глобализации. Это ставит вопрос о самостоятельной и эпидемиологически актуальной проблеме – техногенной

очаговости инфекционных болезней. Техногенные очаги, созданные человеком «de novo» в урбоценозах, представляют собой замкнутые системы, характеризующиеся стойким укоренением и автономной циркулирующей занесенных возбудителей инфекций [4]. Возникают новые места обитания патогенных бактерий в объектах окружения человека: кондиционеры; станции фильтрации воды для мегаполисов; агрокомплексы по выращиванию сельскохозяйственных животных и овощей; централизованные предприятия переработки и хранения пищевых продуктов и многие другие. Возбудители активизируют генетические механизмы, позволяющие им адаптироваться и существовать вдали от природных экосистем, что провоцирует

возникновение дополнительных путей их распространения, результатом которых является формирование мощных вторичных очагов. Главную роль при этом играет трансконтинентальное перемещение людей, животных, растений, а также продуктов, которое с высокой интенсивностью распространяет возбудителей в глобальном масштабе.

Новые знания в области экологии патогенных бактерий (холерных вибрионов, легионелл, иерсиний, листерий и других микроорганизмов) позволили сформулировать современные представления о природной очаговости сапронозов [4], что расширило рамки учения Е. Н. Павловского (1960), а также внесло принципиальные коррективы в эпидемиологию и классификацию инфекционных болезней [5].

Литература

1. Терских В. И. Сапронозы (о болезнях людей и животных, вызываемых микробами, способными размножаться вне организма во внешней среде, являющейся для них местом обитания). // ЖМЭИ. 1958, № 8, С. 118–122.
2. Сомов Г. П. Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка. М.: Медицина. 1979. 184 с.
3. Сомов Г. П., Литвин В. Ю. Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий. Новосибирск: Наука, 1988. 208 с.
4. Литвин В. Ю., Гунзбург А. Л., Пушкарёва В. И. и др. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий. // М. 1998. С. 1–256.
5. Литвин В. Ю., Сомов Г. П., Пушкарёва В. И. Сапронозы как природно-очаговые болезни. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2010;1:10–16.
6. Pushkareva VI, Ermolaeva SA, Litvin VYu. Hydrobionts as reservoir hosts for infectious agents of sapronoses. *Biology Bulletin*. 2010;37:1–10.
7. Pushkareva VI, Ermolaeva SA. *Listeria monocytogenes* virulence factor listeriolysin O favors bacterial growth with the ciliate *Tetrahymena pyriformis* causes protozoan encystment and promotes bacterial survival inside cysts. *BMC Microbiology*. 2010;10:26. doi:10.1186/1471-2180-1026.
8. Pushkareva VI, Slezina MP, Korostyleva TV, et al. Antimicrobial activity of wild plant seed extracts against human bacterial and plant fungal pathogens. *American J. of Plant Sciences*. 2017;8:1572–1592.
9. WHO. *Cholera Annual Report. Weekly Epidemiological Record*. Geneva, 2017. 21 September. 2018;93(38):489–500. Доступно на: <http://www.who.int/wer/2018/wer9338/en/>.
10. Alam MT, Weppelmann TA, Weber CD, et al. Monitoring water sources for environmental reservoirs of toxigenic *Vibrio cholerae* 01, Haiti. *Emerg. Infect. Dis*. 2014;20(3):356–363.
11. Hug A, Small E, West P, et al. Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Appl. Environ. Microbiol*. 1983;45(1):275–283.
12. Colwell RR, Hug A. Environmental reservoir of *Vibrio cholerae*. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 1994;740:44–54.
13. Colwell RR. Infectious disease and environmental: cholera as a paradigm for waterborne disease. *Int. Microbiol*;7(4):285–289.
14. Islam MS, Jahid MI, Rahman et al. Biofilm acts as a microenvironment for plankton-associated *Vibrio cholerae* in the aquatic environment of Bangladesh. *Microbiol Immunol*. 2007;51(4):69–379.
15. Islam MT, Alam M, Boucher Y. Emergence, ecology and dispersal of the pandemic generating *Vibrio cholerae* lineage. *International Microbiology*. 2017;20(3):106–115.
16. Erken M, Lutz C, McDougald D. The rise of pathogens: predation as a factor driving the evolution of human pathogens in the environment. *Microb. Ecol*. 2013;65(4):860–868.
17. Lutz C, Erken M, Noorin P, et al. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol*. 2013;4:375–385.
18. Valeri SP, Wai SN, Saeed A, et al. ToxR of *Vibrio cholerae* affects biofilm, rugosity and survival with *Acanthamoeba castellanii*. *BMC Res Notes*. 2012;16:5–33.
19. Matz C, McDougald D, Moreno AM, et al. Biofilm formation and phenotypic variation enhance predation-driven persistence of *Vibrio cholerae*. *Proc.Natl.Acad.Sci USA*. 2005;102(46):16819–16824.
20. Pushkareva VI, Podlipaeva YI, Gudkov AV. Experimental *Listeria-Tetrahymena-Amoeba* food chain functioning depends on bacterial virulence traits. *BMC Ecol*. 2019;9:47. Доступно на: <https://doi.org/10.1186/s12898-019-0265-5>.
21. Rowbotham T. *Legionella and amoeba*. In: *Legionella*. Proc. of the 2nd Intern. Simp. Atlanta. 1983:325–327.
22. Тартаковский И. С., Груздева О. А., Галстян Г. М. и др. Профилактика, диагностика и лечение легионеллеза. М. 2013. 344 с.
23. Hamilton KA, Prussin AJ, Ahmed W. Outbreaks of Legionnaires Disease and Pontiac Fever 2006–2017. *Curr Environ Health Rep*. 2018;5(2):263–271. doi:10.1007/s40572-018-0201-4.
24. Ymele-Leki P, Houot L, Watnik P. Mannitol and the mannitol-specific enzyme 2b subunit activate *vibrio cholerae* biofilm formation. *Environ. Microbiol*. 2013;79(15):4675–4683.
25. Пушкарёва В. И., Литвин В. Ю., Ермолаева С. А. Растения как резервуар и источник возбудителей пищевых инфекций. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2012;2:10–20.
26. Aiphlett A. Far East Scarlet-Like Fever: A Review of the Epidemiology, Symptomatology, and Role of Superantigenic Toxin: *Yersinia pseudotuberculosis* Derived Mitogen A. *Open Forum Infect. Dis*. 2016;3(1):ofv202.
27. Сомов Г. П., Покровский В. И., Беседнова Н. Н. Псевдотуберкулез. М.: Медицина. 2001. 256 с.
28. Barak J. D., Schroeder B. K. Interrelationships of food safety and plant pathology: the life cycle of human pathogens on plants. *Ann. Rev. Phytopathol*. 2012;50:12–26.
29. Berger CN, Söderhag SV, Shawk K. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environ. Microbiol*. 2010;12(9):2385–97.
30. Boqvist S, Söderqvist K, Vågsholm I. Food safety challenges and One Health within Europe. *Acta Vet Scand*. 2018 Jan 3;60(1):1. doi: 10.1186/s13028-017-0355-3.
31. Buttner D, Bonas O. Common infection strategies of plant and animal pathogenic bacteria. // *Current Opinion in Plant Biology*. 2003;6:2–319.
32. Тимченко Н. Ф., Булгаков В. П., Булах (Персиянова) Е. В. и др. Взаимодействие *Yersinia*, *Listeria* и *Salmonella* с растительными клетками. // ЖМЭИ. 2000;1:6–10.
33. Солохина Л. В., Пушкарёва В. И., Литвин В. Ю. Образование покоящихся форм и изменчивость *Yersinia pseudotuberculosis* под воздействием синезеленых водорослей (цианобактерий) и их экзотоксинов. // *Журн. микробиол*. 2001. № 3. С. 17–22.
34. Пушкарёва В. И., Ермолаева С. А. Экспериментальное обоснование роли растений в эпидемиологии сапронозных инфекций. // *Журн. микробиол*. 2018, № 5, С. 113–121.
35. EFSA and ECDC. *The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011*. *EFSA Journal*. 2013;1:485.
36. Europe PMC Funders Group. *Lancet Infect. Dis*. 2014;11:1073–1082.
37. WHO. *Estimates of the global burden of foodborne diseases*. Geneva. 2015.

References

1. Terskikh VI. Sapronoses (about diseases of people and animals caused by microbes that can multiply outside the body in the external environment, which is their habitat). *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1958;8:118–122. (In Russ.).
2. Somov GP. Far Eastern scarlet fever. *M. Medicine*. 1979. 184 p. (In Russ.).
3. Somov GP, Litvin VYu. Saprophytism and parasitism of pathogenic bacteria. *Novosibirsk: Nauka*, 1988. 208 p. (In Russ.).
4. Litvin VYu, Gunzburg AL, Pushkareva VI, et al. Epidemiological aspects of the ecology of bacteria. *Moscow*. 1998:1–256. (In Russ.).
5. Litvin VYu, Somov GP, Pushkareva VI. Sapronoses as natural focal diseases. *Epidemiology and vaccination*. 2010;1:10–16. (In Russ.).
6. Pushkareva VI, Ermolaeva SA, Litvin VYu. Hydrobionts as reservoir hosts for infectious agents of sapronoses. *Biology Bulletin*. 2010;37:1–10.
7. Pushkareva VI, Ermolaeva SA. *Listeria monocytogenes* virulence factor listeriolysin O favors bacterial growth with the ciliate *Tetrahymena pyriformis* causes protozoan encystment and promotes bacterial survival inside cysts. *BMC Microbiology*. 2010;10:26. doi:10.1186/1471-2180-1026.
8. Pushkareva VI, Slezina MP, Korostyleva TV, et al. Antimicrobial activity of wild plant seed extracts against human bacterial and plant fungal pathogens. *American J. of Plant Sciences*. 2017;8:1572–1592.
9. WHO. *Cholera Annual Report. Weekly Epidemiological Record*. Geneva, 2017. 21 September. 2018;93(38):489–500. Available at: <http://www.who.int/wer/2018/wer9338/en/>.
10. Alam MT, Weppelmann TA, Weber CD, et al. Monitoring water sources for environmental reservoirs of toxigenic *Vibrio cholerae* 01, Haiti. *Emerg. Infect. Dis*. 2014;20(3):356–363.
11. Hug A, Small E, West P, et al. Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Appl. Environ. Microbiol*. 1983;45(1):275–283.
12. Colwell RR, Hug A. Environmental reservoir of *Vibrio cholerae*. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 1994;740:44–54.

13. Colwell RR. Infectious disease and environmental: cholera as a paradigm for waterborne disease. *Int. Microbiol.*;7(4):285–289.
14. Islam MS, Jahid MI, Rahman et al. Biofilm acts as a microenvironment for plankton-associated *Vibrio cholerae* in the aquatic environment of Bangladesh. *Microbiol Immunol.* 2007;51(40):69–379.
15. Islam MT, Alam M, Boucher Y. Emergence, ecology and dispersal of the pandemic generating *Vibrio cholerae* lineage. *International Microbiology.* 2017;20(3):106–115.
16. Erken M, Lutz C, McDougald D. The rise of pathogens: predation as a factor driving the evolution of human pathogens in the environment. *Microb. Ecol.* 2013;65(4):860–868.
17. Lutz C, Erken M, Noorian P, et al. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013;4:375–385.
18. Valeru SP, Wai SN, Saeed A, et al. ToxR of *Vibrio cholerae* affects biofilm, rugosity and survival with *Acanthamoeba castellanii*. *BMC Res Notes.* 2012;16:5–33.
19. Matz C, McDougald D, Moreno AM, et al. Biofilm formation and fenotypic variation enhance predation-driven persistence of *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005;102(46):16819–16824.
20. Pushkareva VI, Podlipaeva YI, Gudkov AV. Experimental *Listeria-Tetrahymena-Amoeba* food chain functioning depends on bacterial virulence traits. *BMC Ecol.* 2019;9:47. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12898-019-0265-5>.
21. Rowbotham T. *Legionella* and amoeba. In: *Legionella. Proc. of the 2nd Intern. Simp. Atlanta.* 1983:325–327.
22. Tartakovsky IS, Gruzdeva OA, Galstyan GM, et al. Prevention, diagnosis and treatment of legionellosis. Moscow. 2013:344 p. (In Russ.).
23. Hamilton KA, Prussin AJ, Ahmed W. Outbreaks of Legionnaires Disease and Pontiac Fever 2006–2017. *Curr Environ Health Rep.* 2018;5(2):263–271. doi:10.1007/s40572-018-0201-4.
24. Ymele-Leki P, Houot L, Watnik P. Mannitol and the mannitol-specific enzyme 2b subunit activate *vibrio cholerae* biofilm formation. *Environ. Microbiol.* 2013;79(15):4675–4683.
25. Pushkareva VI, Litvin VYu, Ermolaeva SA. Plants as a reservoir and source of foodborne pathogens. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2012;2:10–20. (In Russ.).
26. Amphlett A. Far East Scarlet-Like Fever: A Review of the Epidemiology, Symptomatology, and Role of Superantigenic Toxin: *Yersinia pseudotuberculosis* Derived Mitogen A. *Open Forum Infect. Dis.* 2016;3(1):ofv202.
27. Somov GP, Pokrovsky VI, Besednova NN. *Pseudotuberculosis.* Moscow. Medicine. 2001:256 p. (In Russ.).
28. Barak JD, Schroeder BK. Interrelationships of food safety and plant pathology: the life cycle of human pathogens on plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 2012;50:12–26.
29. Berger CN, Sodha SV, Shaw K. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environ. Microbiol.* 2010;12(9):2385–97.
30. Boqvist S, Söderqvist K, Vågsholm I. Food safety challenges and One Health within Europe. *Acta Vet Scand.* 2018 Jan 3;60(1):1. doi: 10.1186/s13028-017-0355-3.
31. Buttner D, Bonas U. Common infection strategies of plant and animal pathogenic bacteria. // *Current Opinion in Plant Biology.* 2003;6:2–319.
32. Timchenko NF, Bulgakov VP, Bulakh (Persyanova) EV, et al. Interaction of *Yersinia*, *Listeria* and *Salmonella* with plant cells. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2000;1:6–10. (In Russ.).
33. Solokhina LV, Pushkareva VI, Litvin VYu. Formation of dormant forms and variability of *Yersinia pseudotuberculosis* under the influence of blue-green algae (cyanobacteria) and their exometabolites. *Journal. microbiol.* 2001;3:17–22. (In Russ.).
34. Pushkareva VI, Ermolaeva SA. Experimental substantiation of the role of plants in the epidemiology of sapronous infections. *Journal. microbiol.* 2018;5:113–121. (In Russ.).
35. EFSA and ECDC. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011. *EFSA Journal.* 2013:1–485.
36. Europe PMC Funders Group. *Lancet Infect. Dis.* 2014;11:1073–1082.
37. WHO. *Estimates of the global burden of foodborne diseases.* Geneva. 2015.

Об авторе

- **Валентина Ивановна Пушкарева** – д. б. н., ведущий научный сотрудник НИЦ эпидемиологии и микробиологии им Н. Ф. Гамалеи, 123182, Москва, ул. Гамалеи, 18. +7(916)6541967, vpushkareva@inbox.ru. Orcid ID <https://orcid.org/0000-0003-4957-1317>.

Поступила: 24.03.2020. **Принята к печати:** 17.05.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Author

- **Valentina Pushkareva** – Dr. Sci. (Biol), Leading Researcher at N. F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, 18 Gamaleya, St., Moscow, 123182, Russian Federation. +7(916)6541967, vpushkareva@inbox.ru. Orcid ID <https://orcid.org/0000-0003-4957-1317>.

Received: 24.03.2020. **Accepted:** 17.05.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

ИНФОРМАЦИЯ МИНЗДРАВА

Эксперт: коронавирус продолжает адаптироваться в человеческом организме (выдержки из интервью с ведущим научным сотрудником Федерального научно-исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, кандидатом медицинских наук Людмилой Алимбаровой)

Жизнь постепенно возвращается в привычное русло. А как дела у вируса, изменился ли он?

Человек меняется, меняется и вирус. На сегодняшний день известно как минимум 6 разновидностей вируса, которые циркулируют в мире. Это китайский, европейский и латиноамериканский варианты вируса.

К сожалению, нельзя сказать, что каждый из вариантов имеет какую-то территориальную принадлежность. Получается, что в конкретном регионе могут распространяться несколько видов вируса. Это говорит о том, что на каждую территорию вирус попадает неоднократно и он претерпевает постоянные изменения. Эти мутации возникают у разных линий вируса независимо друг от друга, что свидетельствует о том, что вирус продолжает адаптироваться к человеку.

Существует несколько точек зрения относительно того, как быстро мутирует вирус и к чему это приводит.

По некоторым данным, новый коронавирус мутирует медленнее, чем другие РНК-содержащие вирусы или вирус гриппа, для которого характерна частота мутаций 1 раз в 10 дней. Исследования геномов COVID-19 в разных регионах мира показали, что все его разновидности имеют общего предка, и определили те его участки, где чаще всего встречаются изменения.

Эти мутации сравнивались с вирусами SARS-CoV-1 и MERS-CoV, которые являются предшественниками COVID-19. Выяснилось, что в то время как у SARS-CoV-1 известны около 6 изменений, а у MERS-CoV – 350 изменений, у нового коронавируса на сегодняшний день изучены около 200. Это подтверждает, что COVID-19 продолжает адаптацию в организме человека.

Есть также точка зрения, что чем больше вирус мутирует, тем быстрее он ослабевает и будет меньше передаваться от одного человека к другому. Это означает, что скоро вирус может стать одной из разновидностей обычных респираторных заболеваний, с которым мы часто встречаемся в холодное время года.

Это радует, а что ожидать от вируса летом?

Нужно сказать о том, что чем выше температура на улице, тем меньше живет на поверхностях вирус. Поэтому летом вероятность

заражения контактно-бытовым путем (через использование ручек дверей, поручней, перил) снижается. Даже когда больной человек в теплое время года разговаривает или кашляет, то вирусные частицы высыхают быстрее и риск заражения значительно уменьшается. Если зимой вирус может быть активен на поверхностях до 3 дней, то летом его активность снижается до нескольких часов. Это касается разных поверхностей, в том числе металла, пластика и стекла.

Но несмотря на некоторое снижение вирусной активности, он все равно представляет опасность. И это значит, что пренебрегать барьерной защитой не стоит, нужно продолжать соблюдение масочного режима в общественных местах, городском транспорте, чтобы защититься от возможного заражения.

Влияет ли образ жизни людей на мутацию вирусов?

С 1970-х годов проводились исследования о том, как физическая активность влияет на возможность инфицирования вирусом гриппа. Эти исследования проводились как на животных, так и с участием людей – профессиональных спортсменов, любителей спортивных активностей и тех, кто ведет малоподвижный образ жизни.

Результаты исследований показали, что уровень физической нагрузки влияет на устойчивость человека к заражению. Те лица, которые не занимаются спортом и малоактивны в жизни, более подвержены заражению респираторными заболеваниями. Такой же эффект наблюдался и у тех, кто занимается спортом чрезмерно – с большими нагрузками и длительным восстановлением.

Те же спортсмены и любители, которые занимаются спортом регулярно и с умеренной степенью нагрузки, продемонстрировали крайне низкую частоту респираторных инфекций по сравнению с двумя предыдущими группами.

Источник: <https://minzdrav.gov.ru/news/2020/07/01/14337-ekspert-koronavirus-prodolzhayet-adaptirovatsya-v-chelovecheskom-organizme>

Эволюция клещевого энцефалита за 80-летний период: основные проявления, вероятные причины

Н. М. Колясникова^{*1,2}, С. Г. Герасимов^{1,3}, А. А. Ишмухаметов¹, В. В. Погодина¹

¹ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова» РАН, Москва

²ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

³ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

Резюме

В данном обзоре выделены и систематизированы проявления эволюции клещевого энцефалита (КЭ) в разных аспектах, которые прослежены за 80-летний период с момента открытия вируса КЭ. Эволюция инфекции выражается в изменении свойств этиологического агента (изменение генетической структуры популяций возбудителя на отдельных территориях, феномен смены доминирующего подтипа, изменение вирулентности), эпидемиологии и экологии КЭ (период выраженного роста заболеваемости, изменение эндемичности территорий, уровня популяционного иммунитета, появление очагов заболевания в пригородных зонах и на территории городов, изменение ареала определённых видов клещей и появление «клещей-мутантов»), а также клинической картины КЭ (явление патоморфоза, рост актуальности микст-инфекций, переносимых клещами). Проведен анализ возможных причин эволюционных преобразований, среди которых основными являются природные факторы (изменение климата), антропогенные факторы, а именно – нарушение естественных природных ландшафтов вследствие хозяйственной деятельности человека и загрязнение окружающей среды некоторыми ядохимикатами, и дополнительные – воздействие вакцинации. **Цель статьи:** характеристика основных проявлений и вероятных причин эволюции КЭ за 80-летний период. **Заключение.** В обзоре впервые представлена информация по основным вопросам данной проблемы, выявлены изменения и преобразования, которые затрагивают возбудителей, переносчиков и, как следствие, влекут за собой изменения в эпидемиологии и клинической картине данного заболевания, что прослеживается на разных территориях.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, вирус клещевого энцефалита, эволюция, патоморфоз, генотипы, сибирский субтип
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Колясникова Н. М., Герасимов С. Г., Ишмухаметов А. А. и др. Эволюция клещевого энцефалита за 80-летний период: основные проявления, вероятные причины. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):78–88. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-78-88>.

Evolution of Tick-Borne Encephalitis over an 80-year Period: Main Manifestations, Probable Causes

NM Kolyasnikova^{**1,2}, SG Gerasimov^{1,3}, AA Ishmukhametov¹, VV Pogodina¹

¹Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and- Biological Products, Moscow

²Central Research Institute of Epidemiology, Moscow

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

Abstract

In this review, the manifestations of the tick-borne encephalitis (TBE) evolution in different aspects, which are traced over the 80 years since the discovery of TBE virus, are highlighted and systematized. The evolution of infection is expressed in a change in the properties of the etiological agent (changing of the genetic structure of the pathogen populations in certain territories, phenomenon of changing in the dominant subtype, changing in virulence), the epidemiology and ecology of TBE (period of marked increase in incidence, changing in the endemicity of territories, level of population immunity, the appearance of foci TBE in suburban areas and cities, changing in the range of certain types of ticks and the appearance of «tick-mutants»), as well as the clinical picture of TBE (phenomenon of pathomorphosis, growing relevance of mixed infections transmitted by ticks). The analysis of the possible causes of evolutionary transformations is carried out, among which the main ones are natural factors (climate change), anthropogenic factors, namely

* Для переписки: Колясникова Надежда Михайловна. к. м. н., заведующая лабораторией клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова. +7(963)693-0814, kolyasnikova_nm@chumakovs.su. © Колясникова Н. М. и др.

** For correspondence: Kolyasnikova Nadezhda, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of TBE and other viral encephalitis of the Chumakov FSC R&D IPR RAS. +7(963)693-0814, kolyasnikova_nm@chumakovs.su. ©Kolyasnikova NM et al.

disturbance of natural landscapes due to human activities and environmental pollution by some pesticides, and additional ones – impact of vaccination. **Purpose of the article:** characteristics of the main manifestations and probable causes of the evolution of TBE over 80 years. **Conclusions:** The review for the first time provides information about the main issues of this problem, identifies changes and transformations that affect pathogens and vectors, and, as a result, entails changes in the epidemiology and clinical picture of this disease, which are traced in different territories.

Keywords: tick-borne encephalitis, tick-borne encephalitis virus, evolution, pathomorphosis, genotypes, siberian subtype
No conflict of interest to declare.

For citation: Kolyasnikova NM, Gerasimov SG, Ishmukhametov AA et al. Evolution of Tick-Borne Encephalitis over an 80-year Period: Main Manifestations, Probable Causes. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):78–88. (In Russ.). [https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-78-88](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-78-88).

Введение

За относительно короткий период, прошедший со времени открытия вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), существенно расширились представления о распространении и характере вызываемой им инфекции – клещевом энцефалите (КЭ).

Нозоареал КЭ в настоящее время охватывает большую часть территории России, не менее 24 европейских государств, в числе которых страны Восточной Европы (Прибалтийские государства, Украина, Беларусь, Болгария, Румыния, Польша, Чехия, Словакия, Словения, Сербия, Хорватия) и частично Центральной и Западной Европы (Австрия, Венгрия, Германия, Нидерланды, Швейцария), Северной Европы и Скандинавии (Дания, Финляндия, Швеция, Норвегия), Средиземноморья (Франция и северо-восток Италии), а также страны северо-восточной Азии (север Японии, Китая, Монголия) и Центральной Азии (Казахстан) [1].

На настоящий момент исследованы эпидемиологические особенности КЭ, получены данные о генетической структуре возбудителя, выделены основные генотипы и серотипы ВКЭ, изучены особенности клинической картины, совершенствуется диагностика, достигнуты определённые успехи в лечении и профилактике.

Вместе с тем остаётся ряд неразрешённых проблем, касающихся КЭ. Очевидно, что эта природно-очаговая инфекция до сих пор актуальна для многих стран мира. В терапии КЭ большой проблемой остаётся отсутствие высокоэффективных этиотропных препаратов. Требуют уточнения стандарты специфической лабораторной диагностики заболевания, тактика вакцинации и ревакцинаций против КЭ, а также выяснение причин заболеваемости привитых.

Рассматривая различные актуальные проблемы, касающиеся той или иной нозологии, всё чаще приходится сталкиваться с отмечаемым различными специалистами фактом, что современное течение ряда болезней зачастую существенно отличается от того, что описывалось в литературе ещё несколько десятков лет назад.

Со временем прослеживается тенденция к тем или иным изменениям, затрагивающим не только клинические, но и эпидемиологические аспекты инфекционных заболеваний, вследствие чего

применительно к инфекционным болезням стало вводиться понятие «эволюция». Так, в 2003 г. вышла книга, в которой, в частности, рассмотрены эпидемиологические особенности различных инфекций в разные периоды: дореволюционный, гражданской войны, СССР и современный [2]. В других работах анализируются изменения патоморфоза инфекционной патологии, увеличение стёртых и субклинических форм и вероятные причины этого процесса, а также эволюция детских инфекций, отмечается смещение их на взрослое население и др. [3,4].

А. В. Дубов описывает эволюционные преобразования природно-очаговых инфекций, отмечая, в частности, изменения путей проникновения вируса КЭ в аспекте эволюционных изменений в системе макроорганизм-микроорганизм и др. [5].

Применительно к КЭ важно учитывать, что это природно-очаговая инфекция с трансмиссивным механизмом передачи, и значимым фактором здесь служат не только изменения, которые претерпевает популяция возбудителя и хозяина, но и также популяция переносчика [5,6].

Такие фундаментальные моменты, как понимание и прослеживание изменений, затрагивающих различные элементы паразитарной системы, вероятно, позволят более эффективно решать практические задачи.

Изучая и анализируя этиологические и эпидемиологические данные, клинические проявления клещевого энцефалита за более чем 80-летнюю историю с момента его открытия, мы выделили ряд изменений, которые затрагивают возбудителей, переносчиков и, как следствие, влекут за собой трансформацию в эпидемиологии и клинической картине данного заболевания, и прослеживаются на разных территориях.

Мы объединили их термином «эволюция КЭ», которая проявляется в нескольких аспектах, перечисленных ниже.

I. Эпидемиологические и экологические аспекты:

- расширение нозоареала;
- рост заболеваемости в конце XX века и на рубеже XX–XXI веков;
- эндемичность пригородных и городских территорий;
- усиление антропогенной трансформации естественных ландшафтов;

- изменение ареала, видового состава иксодовых клещей-переносчиков ВКЭ, сроков их сезонной активности;
- появление популяций клещей с аномалиями экзоскелета как показатель изменения экологической ситуации.

II. Клинические аспекты:

- патоморфоз (клинические и патоморфологические аспекты);
- смешанные клещевые трансмиссивные инфекции.

III. Этиологические аспекты:

- изменение генетической структуры популяции ВКЭ и вирулентности штаммов;
- распространение сибирского подтипа ВКЭ;
- распространение европейского подтипа ВКЭ;
- изменение уровня популяционного иммунитета.

В настоящей статье будут подробно изложены изменения, происходящие в указанных аспектах, и описаны факты, на основании которых были обозначены выделенные показатели эволюции КЭ.

Изменения эпидемиологии и экологии КЭ в России и их вероятные причины

На рубеже XX–XXI веков в Российской Федерации был отмечен беспрецедентный рост заболеваемости КЭ – 10 000 случаев и более в год [6]. Безусловно, одним из факторов, сыгравшим значительную роль в этой ситуации, стала отмена массовых акарицидных обработок препаратом ДДТ при отсутствии альтернативных масштабных методов борьбы с клещами-переносчиками [7,8].

Рассматриваются и другие факторы, которые привели к росту заболеваемости. Среди таковых выделяют постоянно действующие факторы (урбанизация, миграционные процессы, развитие и доступность различных видов транспорта, психоэмоциональные нагрузки, экономические проблемы и др., т. е. факторы социального порядка), временно (доступность медицинской помощи, уровень профилактических мероприятий) и сезонно действующие факторы (абиотические, биотические) [6–11].

В последние годы эндемичными стали пригородные и городские территории, зоны дачного строительства, кладбища, городские парки и т. д. [10]. Во многих регионах (Челябинская, Свердловская [11,12], Томская [9], Ярославская области [13]) до 75% и более заболевших в современный период составляют невакцинированные городские жители. Однако в некоторых регионах такой особенности не прослеживается (Костромская, Курганская области) [13,14].

Тенденции к преимущественной заболеваемости КЭ горожан на различных территориях могли способствовать такие социальные факторы, как развитие сети дорог, рост «автомобилизации» населения, строительство дачного и других объектов. С одной стороны, всё это увеличивает вероятность контакта населения с природными

очагами КЭ, а с другой – приводит и к их трансформации.

В результате разных видов воздействия человека на природу изменяются естественные ландшафты, нарушаются сформировавшиеся природные экосистемы. В конечном итоге это приводит к формированию антропогенно-трансформированных и даже антропургических очагов КЭ [15].

Следует отметить, что в 90-е годы XX века и на рубеже веков усилению трансформации очагов трансмиссивных клещевых инфекций мог способствовать тот факт, что во многих регионах пришло в упадок сельское хозяйство. Это привело к зарастанию полей кустарником и мелкоколесьем, и на таких территориях могли создаваться благоприятные условия для обитания синантропных грызунов – прокормителей клещей-переносчиков КЭ [16].

Кроме того, вследствие упразднения лесничеств лесные массивы стали приходить в неудовлетворительное состояние, что, по-видимому, стало дополнительным фактором, повлиявшим на экологию природных очагов КЭ.

Антропургическим очагам КЭ в современный период придаётся наибольшее эпидемиологическое значение [16]. Так, в частности А. В. Дубов рассматривает антропогенную трансформацию естественных природных ландшафтов как важнейший фактор эволюции КЭ и отмечает, что когда речь идёт об очагах, где циркулирует возбудитель КЭ, то на гомеорез (определённые онтогенетические пути, способствующие возникновению стандартных фенотипов независимо от внешней среды и генетических воздействий) большое влияние оказывает хозяйственная деятельность человека, приводящая, в частности, к изменениям в структуре прокормителей [5].

Другие авторы также отмечают изменение структуры прокормителей клещей в городских очагах, где, помимо основных классических (мышевидных грызунов), таковыми могут стать бродячие собаки, кошки, крысы, а также вороны [17].

Говоря об эволюции инфекций, отдельные авторы также придают значение дополнительным внешним факторам, таким как природные катаклизмы и миграционные процессы, что может быть актуальным и для КЭ [4].

Изменение ареала, видов и структуры доминирующих клещей-переносчиков КЭ

Изменение структуры доминирующих клещей-переносчиков КЭ и ареала иксодовых клещей наблюдается на различных территориях. В Вологодской области в 70-е годы XX века 98,9% клещей относились к *I. ricinus* [18]. В настоящее время в этой области доминирует *I. persulcatus* [19]. В. А. Терновой и соавт. исследовали на городских и пригородных участках г. Томска 5 видов клещей – *I. persulcatus*, *I. pavlovskyi*, *I. trianguliceps*, *D. reticulatus*, *H. concinna* [20]. В городских

биотопах доминировал *I. pavlovskyi*, в пригородах – *I. persulcatus*. По результатам ПЦР, зараженность имаго *I. pavlovskyi* превышала таковую у *I. persulcatus* в 1,6 раза [20].

Описано существование в популяциях иксодовых клещей особей с аномалиями экзоскелета, которые связывают с повышенным содержанием в их организме тяжелых металлов, в первую очередь кадмия и свинца. А. Н. Алексеев и соавт. [21] исследовали влияние антропогенного фактора на онтогенез иксодовых клещей. На Куршской косе (Калининградская область) популяция *I. ricinus* с аномалиями экзоскелета за 6 лет (2004–2010) возросла с 12,7% до 42,5%. Была изучена динамика появлений аномалий экзоскелета на разных стадиях жизненного цикла клещей. Повышенное содержание кадмия было найдено в потомстве F1 и F2. Аккумуляция кадмия и свинца в организме клещей влияет на метаболизм и действует на формирование хитинового экзоскелета [21].

Изменения по локусу лактатдегидрогеназы и аномалии экзоскелета выявлены среди клещей *I. persulcatus* в антропогенно-трансформированных регионах Иркутской области [22]. Аномалии найдены при мониторинге популяций различных видов клещей в пригороде Санкт-Петербурга, в городах Великий Новгород, Череповец, Новосибирск, а также в ряде стран (Англия, Швейцария, Польша, Литва США и др.) [21].

Также появлению различных аномалий у клещей, по всей вероятности, способствовало широкое применение акарицидов в конце XX века. Появление аномальных клещей рассматривается как маркер экологического неблагополучия местности [22].

За последние 50 лет значительные изменения произошли в ареале клещей *I. persulcatus*. Среди вероятных причин изменения ареала переносчиков рассматриваются антропогенная трансформация природных ландшафтов, изменение численности позвоночных животных. Однако основной причиной этого явления большинство экспертов считают глобальные изменения климата [23,24]. Так, показано, что сократилась южная часть ареала клещей *I. persulcatus* и одновременно отмечается выраженное расширение северной части ареала, в частности, они перестали встречаться в Орловской, Калужской, Тульской областях и др., но стали обнаруживаться в Архангельской области, на Урале, в республиках Карелия и Коми и Скандинавских странах (Норвегия, Швеция и Финляндия), в том числе за Полярным кругом [24]. При этом ареал клещей *I. ricinus* изменился в меньшей степени, отмечается увеличение их численности за счёт осеннего увеличения длительности вегетационного периода [24].

С распространением клещей-переносчиков на север связано расширение нозоареала КЭ в соответствующем направлении.

Изменения в клинике и патоморфологии КЭ

Изменения имеют неодинаковую направленность на различных территориях, и потому их описания иногда носят противоречивый характер.

Так, многолетние исследования на Урале выявили изменения тяжести течения КЭ во времени, которые определяют, как клинический и патоморфологический патоморфоз [25]. В этом регионе отмечено несколько отличительных особенностей патологического процесса в ЦНС. Во-первых, локализация процесса имела место преимущественно в передних рогах шейного отдела спинного мозга, стволе мозга, базальных ядрах и коре головного мозга. В большинстве наблюдаемых случаев патологический процесс распространялся по длинику передних рогов, а также и по поперечнику спинного мозга. В направлении головного мозга тяжёлые изменения доходили до зрительных бугров. Во-вторых, имело место тотальное выпадение нервных клеток по всему длиннику передних рогов спинного мозга с дисконкомплексацией и деструкцией нервной ткани. Третьей особенностью явилось то, что клеточная воспалительная реакция была выражена крайне слабо или практически отсутствовала, и нейронофагические узелки встречались крайне редко, и последним важным моментом стало развитие деструктивного отёка, чего не наблюдалось ранее. В то же время было прослежено, что на Среднем Урале в целом, а также в Западной Сибири проявление патоморфоза КЭ заключается в перераспределении синдромов в сторону более доброкачественного течения [26,27]. Однако наряду с этим отмечено, что очаговые формы КЭ протекают тяжелее, в виде многоуровневого с различной комбинацией поражения структур головного мозга, ствола и спинного мозга, которые, в отличие от одноуровневых, сопровождаются сочетанным поражением ЦНС на церебральном, стволовом, спинальном уровнях [12,28].

Тяжелейшие очаговые формы КЭ с летальным исходом регистрируются не только на Дальнем Востоке [29], но и в Сибири, на Урале, в Центральном и Северо-Западном регионах России [9,13,19,26,28].

В частности, с 60-х годов XX века в Свердловской области отмечены следующие проявления патоморфоза: утяжеление течения и степени выраженности общеинфекционного, общемозгового, энцефалитического, полиоэнцефалитического и полиомиелитического синдромов; удлинение лихорадочного периода и появление атипичной двухволновой лихорадки, нарастание степени выраженности показателей воспалительных изменений в общем анализе крови и ликвора; появление различных форм КЭ при алиментарном заражении, в том числе с тяжёлым течением и с летальным исходом [30].

Доказана роль сибирского подтипа ВКЭ в этиологии тяжёлых очаговых форм заболевания [31].

Кроме того, зарегистрированы атипичные случаи геморрагических проявлений при КЭ [32].

Генетическое разнообразие вируса КЭ, изменение структуры вирусной популяции

Развитие методов иммуно- и генотипирования ВКЭ выявило антигенную и генетическую гетерогенность штаммов. В настоящее время общепризнано существование трех подтипов (субтипов) ВКЭ – дальневосточного, европейского и сибирского (синоним – урало-сибирский). В. И. Злобин обозначает эти подтипы, как генотипы 1, 2, 3 [33]. Подтипы ВКЭ подразделяются на кластеры. Grard et al. [34] предложили пересмотреть таксономию ВКЭ, в частности, объединить дальневосточный и сибирский подтипы. Эта позиция не разделяется В. Б. Локтевым [35] и другими специалистами. Grard et al. [34] проводили генетическое сопоставление прототипных штаммов каждого подтипа без учета их генетического разнообразия. Ряд авторов [33,36] исследовали обширные наборы штаммов ВКЭ, что позволило не только установить различия дальневосточного и сибирского подтипов, но и показать широту распространения сибирского подтипа и его доминирование на большей части территории России за пределами Дальнего Востока.

Сибирский подтип подразделяется на азиатский и восточноевропейский топоварианты, и внутри каждого топоварианта выделяют по 2 подгруппы в зависимости от маркерной аминокислоты, находящейся в позиции 234 гена белка Е [37]. Прототипным штаммом для одной из азиатских подгрупп является штамм Заусаев (содержит в маркерной позиции 234 гистидин), для другой – штамм Васильченко (содержит в данной позиции глутамин). Аналогично для восточноевропейских штаммов – в одной подгруппе прототипным является штамм Yaroslavl-142, содержащий в маркерной позиции гистидин, а другую подгруппу составляют вологодские штаммы с уникальной мутацией в позиции 234 – тирозин вместо гистидина или глутамина (прототипный штамм Vologda-658) [36–38].

В целом европейская популяция сибирского подтипа неоднородна. Так, была выделена балтийская группа штаммов, которая рассматривается как отдельный кластер. Между тем, финские штаммы DQ451293-Kokkola-84, DQ451296-Kokkola-118, DQ451295-Kokkola-102, DQ451294-Kokkola-86 наиболее близки вологодским штаммам FJ214138-Vologda-911-74, Vologda-208-98, и ярославскому штамму FJ214144-Yaroslavl-80 [36–38].

Уникальные геноварианты ВКЭ были также выявлены в Кемеровской области. В частности, изоляты 377 и 294, выделенные из клещей в Кемеровском и Крапивинском районах [39].

В регионах Восточной Сибири выявлены штаммы с уникальной генетической структурой – 178-79 и 886-84 [33,40]. Своеобразие этих штаммов заключается в мозаичной структуре генов, содержащих участки геномов двух и всех трех известных подтипов ВКЭ соответственно [41]. В настоящее время штамм 178-79 рассматривается

как самостоятельный генотип 4, представленный единственным штаммом, а касательно штамма 886-84 – выявлена большая группа, насчитывающая уже 21 штамм, гомологичный прототипному [40]. Среди них некоторые были также выделены на территории Монголии [42]. Авторами доказано, что эти штаммы составляют отдельный, самостоятельный генотип 5 (байкальский) [40].

Новым направлением в молекулярной эпидемиологии стал мониторинг вирусных популяций на основе изучения хронологических рядов штаммов [36,38]. Проводилось генотипирование изолятов РНК и штаммов ВКЭ, полученных из клещей из природных станций и клещей, снятых с людей, а также биоматериала от больных КЭ (ткани различных отделов ЦНС, кровь) с дальнейшим анализом структуры вирусных популяций за разные временные интервалы. Было прослежено изменение генетической структуры популяций ВКЭ за почти 70-летний период в Свердловской области [36,38], за 50 лет – в Кемеровской области [38,39], за 30 лет – в Курганской, Ярославской областях [36,38,43].

В Свердловской области в 1939–1945 гг. доля дальневосточного подтипа достигала свыше 95%, в 1959–1960 гг. – доли обоих подтипов были почти равными, а в 2003–2007 гг. доля сибирского подтипа достигала 95% и выше [36,38]. В Кемеровской области в 1953–1963 гг. соотношение дальневосточного и сибирского подтипов ВКЭ также было почти равным, а начиная с конца 1960-х – начала 1970-х годов доля дальневосточного подтипа ВКЭ стала снижаться [36,38]. В 2003–2015 гг. на территориях обоих регионов доля сибирского подтипа в исследованных вирусных популяциях равна 98–100% [36,38,39]. В Курганской области сибирский подтип доминировал на протяжении всего периода наблюдений, а в современный период популяция его достигла 100% [36,38].

Также в 2014 г. сибирский подтип ВКЭ составлял до 100% вирусных популяций в республиках Тыва [44], Хакасия и Красноярском крае [45]. Имеющиеся данные позволяют считать, что в Красноярском крае также произошло изменение генетической структуры популяции ВКЭ за 30-летний период. В 2002–2003 гг. был обследован биоматериал (ткани различных отделов ЦНС) от пяти умерших пациентов из Красноярского края. Все изоляты РНК принадлежали к сибирскому подтипу ВКЭ [42].

Изменения в структуре популяции ВКЭ выявлены и на территории Центрального федерального округа (ЦФО) России. В Ярославской области в 1983–1989 гг. доля дальневосточного подтипа превалировала – он был выявлен в клещах *I. persulcatus* при отсутствии в них сибирского подтипа [43]. В 1990–1993 гг. отмечался так называемый период симпатрии, когда были выявлены 6 микст-штаммов (политиповых штаммов), содержащих геномы дальневосточного

и сибирского подтипов из клещей и от больных КЭ [43,46]. С конца 90-х годов XX века по настоящее время сибирский подтип абсолютно доминирует в регионе, РНК дальневосточного подтипа не была обнаружена ни в одном экземпляре клеща или биоматериале от больных [43].

Так, за разные периоды времени в регионах Урала, Западной и Восточной Сибири, а также ЦФО прослежено изменение генетической структуры вирусной популяции возбудителя КЭ, в результате которого общим является вытеснение из популяции дальневосточного подтипа.

Произошедшие изменения впервые описаны нами как феномен смены подтипов ВКЭ [36]. Отмечена связь этого явления с антропогенной трансформацией естественных природных ландшафтов.

На примере некоторых регионов (Вологодская область) показано абсолютное доминирование сибирского подтипа, однако не было прослежено изменение структуры популяции во времени за период наблюдений [38,47].

Одновременно с этим на ряде территорий до настоящего времени наблюдается коциркуляция двух и даже трех подтипов ВКЭ – Иркутская область, Забайкальский край и другие [31,45]. О смене доминирующего подтипа ВКЭ на определённой территории также свидетельствуют изменения иммунной структуры у проживающего на ней населения.

В 1978–1979 гг. была изучена структура естественного иммунитета у населения разных регионов с выявлением в реакции нейтрализации антител, избирательно реагирующих со штаммами сибирского и дальневосточного подтипов ВКЭ. В Красноярском крае из общего числа серопозитивных сывороток 12% реагировали только со штаммом Айна сибирского подтипа, 27% – со штаммом Софьин дальневосточного подтипа и 63% – со штаммами обоих подтипов, в Курганской области – соответственно 8%, 6,5% и 85,5%. В Ярославской области сывороток, реагирующих со штаммом Айна, не было выявлено, со штаммом Софьин – 28%. Полученные данные свидетельствуют о циркуляции на данной территории в указанные годы дальневосточного подтипа ВКЭ [48]. В настоящие годы на данных территориях абсолютно доминирует сибирский подтип, что доказано выделением большого количества штаммов и изолятов ВКЭ [45].

Проведенные исследования позволяют сделать вывод, что смена подтипов ВКЭ имеет единую направленность – исчезновение дальневосточного подтипа и замещение его сибирским, однако происходит это асинхронно и не во всех природных очагах КЭ.

В период симпатрии двух подтипов ВКЭ из клещей, из крови больных и из мозга погибших пациентов в ряде регионов выделяли микст-штаммы (политиповые штаммы), сочетающие фрагменты геномов двух подтипов в области генов E и NS1 [36,38,41]. Расчет частоты изоляции

микст-штаммов показывает, что они составляют до 15–18% вирусной популяции [46].

Проблема смены подтипов ВКЭ и сам этот термин стали предметом дискуссии. Существуют разные гипотезы о причинах этого явления. Факт исчезновения из вирусной популяции дальневосточного подтипа не оспаривается. Однако термин «смена подтипов» отрицается в частности С. Ю. Ковалевым [49], уделившим особое внимание условиям появления и исчезновения дальневосточного подтипа, связывая их с реализацией программы переселения ценных пород зверей и птиц в 1930–1990 гг., когда около полумиллиона особей животных были переселены с Дальнего Востока. С. Ю. Ковалев показал, что среди штаммов ВКЭ в Свердловской области в 1966–1986 гг. дальневосточный подтип составлял 18,6% [49], и выделение им единственного и последнего на настоящий момент штамма дальневосточного подтипа (что составило 0,003% от выделенных изолятов в регионе) датируется 2007–2008 гг.

Однако данная гипотеза имеет ряд серьёзных противоречий. Переселение полумиллиона особей животных недостаточно для обширных пространств, на которых (вне Дальнего Востока) выявлен дальневосточный подтип ВКЭ. Известны успешные примеры переселения (ондатра) и неудачные (ценные виды соболя). Грызуны, являющиеся основными прокормителями клеща на ранних стадиях развития, не могли входить в перечень переселяемых видов животных.

В другой гипотезе [50] основное внимание уделяется антропогенной трансформации естественных природных ландшафтов, хотя не уточняется, как именно изменения природных очагов, клещей, прокормителей и других факторов способствуют доминированию сибирского подтипа ВКЭ.

Третья гипотеза уделяет основное внимание особенностям штаммов сибирского подтипа, которые благоприятствовали его широкому распространению в природе. К таким особенностям относятся выраженная способность к персистенции [48], которая чаще всего наблюдается у заражённых животных-прокормителей клещей. Другой особенностью является антигенная дефектность штаммов, выделенных из клещей. Штаммы, лишённые гемагглютинирующей и преципитирующей активности, имеют уникальные точечные мутации, способны распространяться двумя видами клещей – *I. ricinus* и *I. persulcatus*, при этом они могут передаваться неvirемическим путём от заражённых клещей к незаражённым [51].

Циркуляция европейского подтипа ВКЭ на территории России

Представления о том, что на территории бывшего СССР распространён европейский подтип ВКЭ, основаны на характеристике ряда штаммов в 30–60-е годы XX века и на ретроспективном их генотипировании. Первым является штамм 256,

изолированный М.П. Чумаковым в 1939 г. из клещей *I. ricinus* в Белоруссии.

В конце 40-х – 50-х годов XX века при изучении так называемого молочного двухволнового менингоэнцефалита А. А. Смородинцевым и соавт. [52] в Ленинградской области и двухволновой молочной лихорадки М. П. Чумаковым и С. Г. Дроздовым в Московской области [53] были изолированы из клещей *I. ricinus* и больных людей штаммы Абсеттаров, В-22 и Пан, которые имели некоторые антигенные отличия от штамма Софьин дальневосточного подтипа [53]. Ретроспективно штаммы Абсеттаров и Пан так же, как и ранее описанный штамм 256, были генотипированы и определены, как штаммы европейского подтипа [54].

Таким образом, можно считать, что европейский подтип присутствовал в Иркутской, Ленинградской и Московской областях в конце 30-х, 40–50-е и начале 60-х годов прошлого века.

В настоящее время циркуляция штаммов европейского подтипа установлена в Иркутской области, республике Алтай, где доля данного подтипа в популяциях ВКЭ составляет 4 и 6–7% соответственно [45]. Выявлен европейский подтип также в Московской области в 2017 г. [55].

В целом на изменения, касающиеся популяции возбудителя КЭ, могут оказывать влияние различные факторы, в первую очередь экологические, которые обсуждались выше. В аспекте рассмотрения эволюции возбудителя и эволюции КЭ как инфекции стоит вновь упомянуть работу А. В. Дубова, который придаёт большое значение эволюции микроорганизма, которая идёт быстрее, чем эволюция макроорганизма, и является причиной изменений инфекционного процесса [5]. Вирусы в принципе являются довольно изменчивыми микроорганизмами, особенно это касается РНК-содержащих. На примере высокоизменчивого вируса гриппа, в частности, было прослежено, что РНК мутирует в миллионы раз быстрее, чем ДНК [56]. Этот вопрос требует изучения.

Помимо этого, важным фактором, влияющим на эволюцию возбудителя, считают и противоэпидемические мероприятия, включая вакцинацию, что наиболее актуально для управляемых, в частности детских инфекций [4], а также применение антибиотиков. Известно, что ряд антибиотиков обладает иммунодепрессивными свойствами [57,58]. Антибиотики применяют как для терапии вторичных инфекций при КЭ, так и для лечения случаев его сочетанной (смешанной) инфекции с заболеваниями бактериальной природы – иксодовым клещевым боррелиозом (ИКБ), гранулоцитарным анаплазмозом и моноцитарным эрлихиозом человека. Совместно с этиотропными препаратами для лечения КЭ (противоклещевой специфический иммуноглобулин, препараты интерферона, рибонуклеаза) и патогенетической терапией на исход клещевой смешанной инфекции может влиять прием антибактериальных препаратов, которые

подавляют иммунный статус больного, что усугубляет течение КЭ. В литературе описаны случаи микст-инфекции КЭ и ИКБ, когда после улучшения состояния на фоне приема доксицилина внезапно развилась тяжелая очаговая форма КЭ с летальным исходом [59].

Проблема вакцинопрофилактики КЭ

А. С. Караванов [60] впервые обратил внимание на снижение уровня коллективного иммунитета к ВКЭ у населения Западного Урала. Позже эти данные были подтверждены во многих регионах страны. Так, в 2013 г. в РФ в среднем популяционный иммунитет составлял 5,97%, по регионам: Уральский федеральный округ (ФО) – 25,74%, Сибирский ФО – 14,72%, Дальневосточный ФО – 11,47%, Приволжский ФО – 3,92%, Центральный ФО – 0,33% [61]. Снижение коллективного иммунитета может быть вызвано различными причинами. Одним из факторов, способствующим его снижению, считают неблагоприятную экологическую обстановку, в частности, антропогенное загрязнение окружающей среды. В качестве примера можно привести данные, касающиеся вируса гриппа: под влиянием присутствия хлоридов кадмия и цинка, а также под влиянием радиации в заражённых этим вирусом клетках снижается синтез интерферона более чем в 60 раз. Считается, что это может приводить к повышению восприимчивости людей к вирусу и способствовать развитию эпидемий [62]. Так, загрязнение солями кадмия территорий некоторых регионов России, упоминаемое ранее в аспекте влияния на экзоскелет клещей, может оказывать негативное воздействие на неспецифические механизмы иммуногенеза человека и т.д., что требует дополнительного изучения. Другой вероятной причиной снижения коллективного иммунитета может быть неблагоприятная экономическая ситуация в регионах, которая приводит к уменьшению как объемов вакцинации, так и ревакцинации населения.

Коллективный иммунитет к ВКЭ может также и повышаться, чему способствует, в первую очередь, проведение массовой иммунизации населения. Это можно проследить на примере Свердловской области, единственного региона, в котором уже более 20 лет реализуется программа массовой вакцинопрофилактики против КЭ. В 2015 г. охват вакцинацией населения составил 93,8% [11]. В результате достигнута высокая эпидемиологическая эффективность – около 99%; заболеваемость КЭ снизилась с 43 (1996 г.) до 2,6 на 100 тыс. населения (2015 г.), уменьшилось количество очаговых форм среди вакцинированных, а уровень иммунной прослойки среди населения региона вырос с 28% (1996 г.) до 78,2% (2015 г.) [11,63,64]. Однако на сегодняшний день в большинстве эндемичных по КЭ регионов РФ на практике данная профилактическая мера в подобных масштабах не осуществляется.

Нужно отметить высокий процент охвата вакцинацией населения против КЭ в Челябинской области – 71,3% [11]. В других эндемичных по КЭ регионах РФ в настоящее время охват вакцинацией значительно ниже и составляет 3–40% [65,66]. На территории ЦФО – в Ярославской области охват взрослого населения вакцинацией к 2018 г. составил 18,3%, детей в высокоэндемичных районах – свыше 70% [13]. В наиболее эндемичном по клещевому энцефалиту регионе ЦФО – Костромской области на 2016 г. привитость взрослого населения составила – 4,2%, детского – 1% [13].

Для достижения эпидемиологической эффективности вакцинации на эндемичных по КЭ территориях необходимо охватить вакцинацией не менее 95% населения.

Смешанные клещевые инфекции

В последние годы весьма актуальной стала проблема смешанных инфекций, переносимых иксодовыми клещами, среди которых наиболее распространенными являются КЭ и ИКБ. В настоящее время доступны коммерческие наборы реагентов на основе ПЦР, в том числе для одновременной детекции в клещах группы патогенов – возбудителей КЭ, ИКБ, эрлихиоза и анаплазмоза (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва).

В разных регионах РФ варьируют как зараженность клещей всеми вышеперечисленными патогенами, так и частота сочетанных заболеваний КЭ и ИКБ. Показатели частоты микст-инфекций КЭ и ИКБ в конце XX – начале XXI века составляли от 3,4–4,8% в Свердловской и Тюменской областях [67–69] до 38,4% на Южном Урале [70]. В Кемеровской области среди детей сочетанная инфекция КЭ + ИКБ, по данным А. В. Дементьева и соавт., колебалась от 17 до 49,4% и частота

микст-инфекций могла значительно различаться в течение близких временных интервалов [71].

Заключение

В последнее время появилась новая информация, касающаяся распространённости ВКЭ, генетического разнообразия субтипов, сравнительной характеристики клинической картины КЭ в различных регионах и странах. Среди штаммов дальневосточного подтипа выделяют 4 группы в зависимости от генетических особенностей [72]. Показано, что данный подтип распространён от Балканского полуострова до Японии и Китая [72–74]. Касательно сибирского подтипа ВКЭ – установлено, что он распространён от балканских государств на западе до Казахстана и Кыргызстана на юге [75,76]. Штаммы европейского подтипа впервые выявлены на азиатской территории – в Южной Корее из диких грызунов [77–79]. Особенностью европейского подтипа, согласно современным данным, является относительно слабая патогенность, отсутствие хронических форм, частое развитие двухволнового течения заболевания. Иммуная прослойка среди населения в зоне распространения европейского подтипа колеблется от 14% (Дания) до 39% (на территории Аландских островов, Финляндия) [73].

Анализируя все вышеизложенные научные факты, данные и гипотезы, можно сделать вывод о том, что процесс эволюции инфекции КЭ обоснованно существует и происходит он в условиях изменения внешних факторов (климат, антропогенное воздействие на окружающую среду и др.), которые, вероятно, и являются его главными направляющими силами. При этом данный эволюционный процесс не является однородным, он идет асинхронно на разных территориях и требует дополнительного изучения.

Литература

1. Erber W, Schmitt H-J, Vukovic Jankovich T. Chapter 12a: Epidemiology by country – an overview. DOI:10.33442/978-981-14-0914-1_12A.
2. Покровский В. И., Онищенко Г. Г., Черкасский Б. Л. Эволюция инфекционных болезней в России в XX в. Москва: Медицина, 2003: 664 с.
3. Абаев Ю. К. Эволюция болезней и нозологический принцип в медицине // Медицинские новости. 2008. № 4. С. 8–15.
4. Учайкин В. Ф., Шамшева О. В. Эволюция детских инфекций // Детские инфекции. 2010. № 3. С. 3–6.
5. Дубов А. В. Экологический гомеорез в механизме эволюции вирулентности и путей проникновения в организм человека возбудителей природно-очаговых инфекций. // Детские инфекции. 2014. № 3. С. 36–39.
6. Коренберг Э. И. Клещевой энцефалит. Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. Москва: Медицина; 2003. С. 387–404.
7. Горчаковская Н. Н., Преображенская Н. К., Окулова Н. М. и др. Колебания численности компонентов биоценоза клещевого очага (Салаирский край) и разрушение природного очага с помощью акарицидов. Расширенное заседание комитета по борьбе с клещевым энцефалитом // Автореф. докл. на расширенном заседании комитета по борьбе с клещевым энцефалитом. Омск; 1962: С. 47–50.
8. Коротков Ю. С., Шеланова Г. Н., Богданова Н. Г. Динамика заболеваемости клещевым энцефалитом в Удмуртии на протяжении полувека (1957–2007 гг.). // Медицинская вирусология. 2008. Т. XXV, С. 80–89.
9. Жукова Н. Г., Команденко Н. И., Подоплека Л. Е. Клещевой энцефалит в Томской области. Томск: СТТ; 2002. 254 с.
10. Злобин В. И., Львов Д. К. Клещевой энцефалит. В кн.: Медицинская вирусология: Руководство. Под ред. Д. К. Львова. Москва: ООО Медицинское информационное агентство; 2008. С. 548–552.
11. Ладыйн О. В., Быков И. П., Романенко В. В. и др. Анализ заболеваемости клещевым энцефалитом на Среднем и Южном Урале за период 2011–2015 гг. // Национальные приоритеты России. 2016. № 4. С. 41–44.
12. СОЦМП (Свердловский областной центр медицинской профилактики). Методические указания // Эпидемиология, этиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика клещевого энцефалита. Екатеринбург. «Экс-Пресс». 2004. 72 с.
13. Герасимов С. Г., Смирнова Л. В., Разумовский С. Л. и др. Эпидемическая ситуация по клещевому энцефалиту в регионах Центрального федерального округа России. // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2019. Т. 8, № 4(31). С. 17–23.
14. Щербинина М. С., Скрынник С. М., Левина Л. С. и др. Состояние поствакцинального иммунитета к вирусу клещевого энцефалита у населения высокоэндемичной территории в условиях доминирования сибирского подтипа возбудителя. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2018;17(2):27–36.
15. Гольдфарб Л. Г. Изучение эпидемиологического процесса при клещевом энцефалите в связи с задачами профилактики. Дисс. ... д.м.н. Москва; 1973.
16. Кучерук В. В. Избранные труды. // Москва: Товарищество научных изданий КМК; 2006. 405 с.
17. Хохуткин И. М., Большаков В. Н., Бердюгин К. И. и др. Экологические проблемы клещевого энцефалита в антропогенной среде. Материалы научно-практической конференции «Совершенствование защиты населения территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера в условиях Уральского региона»: 28–29 апреля 1998. Екатеринбург; 1998. С. 110–111.

18. Кошкина Т. В., Чумаков М. П., Сарманова Е. С. и др. Сравнительная характеристика очагов клещевого энцефалита в Центральной и Северо-западной частях Вологодской области. // Вопросы вирусологии. 1975. С. 306–307.
19. Лесникова М. В., Лесников И. Р., Филоненко И. В. и др. Особенности клещевого энцефалита на территории Вологодской области. // Медицинская вирусология. 2007. Т. XXIV. С. 53–58.
20. Терновой В. А., Кононова Ю. В., Москвитина Н. С. и др. Вирус клещевого энцефалита в городских и пригородных биотопах г. Томска. В сб.: Всероссийская научно-практическая конференция «Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита»; 15–16 ноября 2007. Москва; 2007. С. 110–120.
21. Alekseev A. N., Dubinina N. V., Jushkova O. V. Influence of anthropogenic pressure on the system «Tick-Tick-borne Pathogens». Sofia-Moscow-St. Petersburg: Pensoft; 2010. 190 p.
22. Никитин А. Я., Козлова Ю. А., Прадедова Е. В. и др. Фенотипическое и генотипическое разнообразие таежного клеща на территории Иркутской области. // Журнал инфекционной патологии. 2009. Т. 16, № 3. С. 156–160.
23. Zanotto P. M., Gao G. F., Gritsun T. S., et al. An Arbovirus cline across the Northern Hemisphere. // Virology. 1995. Vol. 210, №1. P. 152–159.
24. Коротков Ю. С. Изменения ареалов *I. ricinus* и *I. persulcatus* на протяжении полувека. // Медицинская вирусология. 2017. Т. XXXI, № 1. С. 29.
25. Ерман Б. А., Дроздова Л. И., Зайцева Л. Н. и др. Патологическая анатомия современного клещевого энцефалита на Урале. Екатеринбург: УрГСХА. 1999: 85 с.
26. Волкова Л. И., Образцова Р. Г. Клиническая картина острог клещевого энцефалита на Среднем Урале. В кн.: Клещевой энцефалит. Леонова Г. Н., Сомова-Исачкова Л. М., ред. Владивосток: Приморский полиграфкомбинат; 2002. С. 88–98.
27. Иерусалимский А. П. Клещевой энцефалит: руководство для врачей. Новосибирск: Новосибирская гос. мед. академия; 2001. 360 с.
28. Волкова Л. И., Ковтун О. П., Галунова А. Б. Клиника острых и хронических форм клещевого энцефалита на Среднем Урале. // Вестник Уральской Государственной медицинской академии. 2010. Т. 21. С. 59–69.
29. Леонова Г. Н. Клещевой энцефалит: актуальные аспекты. Москва: И. В. Балабанов; 2009: 168 с.
30. Образцова Р. Г. Патоморфоз клещевого энцефалита на Среднем Урале. Екатеринбург: УрГСХА, Уральское издательство; 2008: 228 с.
31. Андаев Е. И., Трухина А. Г., Карань Л. С. и др. Клещевой энцефалит в Читинской области и этиология очаговых форм с летальным исходом. // Бюлл. СО РАМН. 2007; Т. 4, № 126. С. 60–65.
32. Teronovoy V. A., Kurzhukov G. P., Sokolov Y. V., et al. Tick-Borne Encephalitis with Hemorrhagic Syndrome, Novosibirsk Region, Russia, 1999. // Emerging Infectious Diseases. 2003. Vol. 9. P. 743–746.
33. Злобин В. И., Верхозина М. М., Демина Т. В. и др. Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита. // Вопросы вирусологии. 2007. № 6. С. 4–13.
34. Grard G., Moureau G., Charrel R. H. et al. Genetic characterization of tick-borne flaviviruses: new insight into evolution, pathogenetic determinants and taxonomy. // Virology. 2007. Vol. 361, № 1. P. 80–92.
35. Локтев В. Б. Вирус клещевого энцефалита. Генетические особенности и его изменчивость в современном мире. // Бюлл. СО РАМН. 2007; Т. 4, № 126. С. 14–21.
36. Погодина В. В., Карань Л. С., Колясников Н. М., и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя. // Вопросы вирусологии. 2007. № 5. С. 16–20.
37. Карань Л. С., Погодина В. В., Фролова Т. В. и др. Генетические различия восточноевропейской и азиатской популяции вируса клещевого энцефалита сибирского подтипа. // Бюлл. СО РАМН. 2006; № 5 (прил. 1). С. 24–27.
38. Колясников Н. М. Мониторинг структуры популяции вируса клещевого энцефалита в Уральском, Западно-Сибирском и Северо-западном регионах России (вирусологические и молекулярно-биологические исследования). Дисс. ... к.м.н. Москва; 2008: 216 с.
39. Ефимова А. Р., Карань Л. С., Дроздова О. М. и др. Современная эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту и генетическое разнообразие ВКЭ на территории Кемеровской области. // Медицинская вирусология. 2015. Т. XXIX № 1. С. 3–15.
40. Козлова И. В., Верхозина М. М., Демина Т. В. и др. Восточная Сибирь – уникальная территория обитания различных генотипов и генотипов вируса клещевого энцефалита. // Медицинская вирусология. 2017. Т. XXXI, № 1. С. 27.
41. Карань Л. С., Браславская С. И., Мязин А. Е. Развитие методов детекции и генотипирования вируса клещевого энцефалита на основе амплификационных технологий. // Вопросы вирусологии. 2007. № 6. С. 17–22.
42. Хаснатинов М. А., Данчинова Г. А., Кулакова Н. В. и др. Генетическая характеристика возбудителя клещевого энцефалита в Монголии. // Вопросы вирусологии. 2010. № 3. С. 27–32.
43. Герасимов С. Г. Эволюция клещевого энцефалита в Центральном федеральном округе России. Моделирование смены подтипов возбудителя в эксперименте. Дисс. ... к.м.н. Москва; 2012: 212 с.
44. Мельникова О. В., Адельшин Р. В., Трушина Ю. Н. и др. Обследование территории республики Тыва на некоторые природно-очаговые инфекции. // Инфекционные болезни. 2014. Т. 12, № 4. С. 48–55.
45. Верхозина М. М. Молекулярная эпидемиология и экология вируса клещевого энцефалита в Восточной Сибири. Дисс. ... д.б.н. Иркутск; 2014. 369 с.
46. Погодина В. В., Карань Л. С., Колясников Н. М. Политиповые штаммы в генофонде вируса клещевого энцефалита. // Вопросы вирусологии. 2012. № 3. С. 30–36.
47. Лесникова М. В., Колясников Н. М., Смелков С. Н. Эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту в Вологодской области на современном этапе. // Медицинская вирусология. 2015. Т. XXIX. С. 94.
48. Погодина В. В., Фролова М. П., Ерман Б. А. Хронический клещевой энцефалит. Новосибирск: Наука; 1986: 232 с.
49. Ковалев С. Ю., Мухачева Т. А. Проблема «смены» генотипа вируса клещевого энцефалита на Урале за последние 60 лет. // Национальные приоритеты России «Актуальные проблемы природной очаговости болезней». 2011. Т. 2, № 5. С. 151–153.
50. Липин С. И., Жезмер В. Ю. К вопросу об эволюции природных очагов клещевого энцефалита в Восточной Сибири (Предбайкалье). В кн.: Природно-очаговые инфекции в районах народнохозяйственного освоения Сибири и Дальнего Востока. Омск: Омский мед. институт; 1983. С. 36–40.
51. Хаснатинов М. А., Устаникова К., Фролова Т. В. и др. Точечные мутации в белке E вируса клещевого энцефалита определяют утрату гемагглютинирующей активности и усиливают невиремическую трансмиссию вируса к новому клещу-переносчику. // Медицинская вирусология. 2009. Т. XXVI. С. 132–133.
52. Смородинов А. А., Дробышевская А. И., Ильенко В. Н. Этиология и иммунология двухволнового вирусного менингоэнцефалита. // Новости медицины. 1953. Т. 38. С. 44–51.
53. Чумаков М. П., Беляева А. П., Дроздов С. Г. О природе так называемой двухволновой молочной лихорадки и ее взаимосвязях с омской клещевой геморрагической лихорадкой (ОГЛ), клещевым (весенне-летним) энцефалитом и шотландским клещевым энцефалитом овец. // Тез. докл. на 7-й сессии АМН СССР. 1954. С. 37–39.
54. Ecker M., Allison S., Meixner T., et al. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. // General Virology. 1999. Vol. 80. P. 179–185.
55. Makenov M., Karan L., Shashina N., et al. First detection of Tick-borne encephalitis virus in Ixodes ricinus ticks and their rodent hosts in Moscow, Russia. Ticks and Tick-borne Diseases. 2019 Oct; 10(6):101265. doi: 10.1016/j.ttbdis.2019.101265.
56. Жданов В. М. Эволюция вирусов. Москва: Медицина; 1980. 374 с.
57. Маленко Г. В., Погодина В. В., Кармышева В. Я. Стрептомицин – активатор персистирующего вируса клещевого энцефалита. // Вопросы вирусологии. 1984. № 2. С. 217–223.
58. Маленко Г. В., Погодина В. В., Фролова М. П., Иванникова Т. А. Стратегия выбора антибиотиков для терапии бактериальных инфекций, ассоциирующихся с хроническим клещевым энцефалитом. // Вопросы вирусологии. 1996. № 3. С. 138–141.
59. Алексеев А. Н., Дубинина Е. В., Вашукова М. А. и др. Боррелии как вероятные антагонисты вируса клещевого энцефалита: паразитологический и клинический аспекты проблемы. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2001. № 3. С. 3–11.
60. Караванов А. С., Пиванова Г. П., Бычкова М. В., и др. Динамика гуморального иммунитета к вирусу клещевого энцефалита у населения трех регионов. // Вопросы вирусологии. 1988. № 5. С. 633–638.
61. Носков А. К., Ильин В. П., Андаев Е. И. и др. Заблеваемость клещевым вирусным энцефалитом в Российской Федерации по федеральным округам в 2009–2013 гг., эпидемиологическая ситуация в 2014 г. и прогноз на 2015 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2015. № 1. С. 46–50.
62. Дубинин Н. П., Засухина Г. Д., Львова Г. Н. и др. Синтез вирусиндуцированного интерферона при воздействии на клетки облучения и химических мутагенов. // Доклады Академии наук СССР. 1977. Т. 232. С. 680.
63. Романенко В. В., Анкудинова А. В., Клячина А. С. Эффективность программы массовой вакцинопрофилактики клещевого энцефалита в Свердловской области. // Вестник Уральской Государственной медицинской академии. 2010. Т. 21. С. 125–132.
64. Есюнина М. С. Современные тенденции заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в условиях различных тактик иммунизации и усовершенствование эпидемиологического надзора и контроля. Дисс. ... к.м.н. Пермь; 2015: 153 с.
65. Погодина В. В., Щербинина М. С., Герасимов С. Г. и др. Современные проблемы специфической профилактики клещевого энцефалита. Сообщение I: вакцинопрофилактика в зоне доминирования сибирского подтипа возбудителя. // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2015. Т. 14, № 5(84). С. 77–84.
66. Погодина В. В., Щербинина М. С., Скрынник С. М. и др. Эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту и вакцинопрофилактика в Курганской области (1983–2017 гг.). // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17, № 4. С. 46–56.
67. Лесняк О. М., Пономарев Д. Н., Волкова Л. И. и др. Некоторые аспекты эпидемиологии Лайм-боррелиоза в Свердловской области. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1995. № 1. С. 7–19.
68. Волкова Л. И., Анкудинова М. В., Рудаков И. Л. и др. Клинико-эпидемиологические особенности микст-инфекций, передающихся иксодовыми клещами в Свердловской области. Научно-практическая конференция «Клещевые боррелиозы»; 19–21 ноября 2002. Ижевск; 2002. С. 89–91.

69. Козлов Л. Б., Мефодьев В. В., Огуцов А. А. Микст-инфекция иксодового клещевого боррелиоза и клещевого энцефалита в Тюменской области. Научно-практическая конференция «Клещевые боррелиозы»; 19–21 ноября 2002. Ижевск; 2002. С. 161–162.
70. Конькова-Рейдман А. Б., Злобин В. И., Тарасов В. Н., и др. Эпидемиологическая характеристика облигатных трансмиссивных клещевых инфекций в Южно-Уральском регионе России // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2010. Т 17, № 3. С. 79–81.
71. Дементьев А. В., Апелькова Е. Н., Субботин А. В. и др. Научно-практическая конференция «Клещевые боррелиозы»; 19–21 ноября 2002. Ижевск; 2002. С. 121.
72. Demina T. V., Dzhoiev Y. P., Verkhovina M. M. et al. Genotyping and characterization of the geographical distribution of tick-borne encephalitis virus variants with a set of molecular probes. // *Medical virology*. 2010. Vol. 82. P. 965–976.
73. Dobler G., Tkachev S. General epidemiology of tick-borne encephalitis. In: Dobler G, Erber W, Schmitt H.-J., eds. *Tick-Borne Encephalitis (TBE)*. Global Heals Press. Singapore; 2018. P. 103–110.
74. Hubalek Z, Rudolf I. Tick-borne encephalitis viruses in Europe // *Parasitology Research*. 2012. Vol. 111. P. 9–36.
75. Abdiyeva K., Turebekov N., Shapiyeva Z. et al. The south of Kazakhstan is a hotspot for the Siberian Subtype of Tick-borne encephalitis virus. 15-th Medical Biodefense Conference abstracts; 2016; 26–29 April; Munich, Germany; 2016. P.31.
76. Hay J., Keh K.B., Dasgupta D. et al. Biosurveillance in Central Asia: Successes and Challenges of Tick-borne Disease Research in Kazakhstan and Kyrgyzstan // *Front Public Health*. 2016. № 4. P. 4.
77. Kim S. Y., Yun S. M., Han M. G. et al. Isolation of Tick-borne encephalitis viruses from wild rodents, South Korea. // *Vector Borne Zoonotic Diseases*. 2008. № 8. P. 7–13.
78. Kim S. Y., Jeong Y. E., Yun S. M., et al. Molecular evidence for Tick-borne encephalitis virus in ticks in South Korea. // *Medical and Veterinary Entomology (Med Vet Entomol)*. 2009. Vol. 23. P.15–20.
79. Yun S.M., Kim S.Y., Ju Y.R., et al. First complete genomic characterization of two Tick-borne encephalitis virus isolates obtained from wild rodents in South Korea. // *Virus Genes*. 2011. Vol. 42. P. 307–316.

References

1. Erber W, Schmitt H-J, Vukovic Jankovich T. Chapter 12a: Epidemiology by country – an overview. DOI:10.33442/978-981-14-0914-1_12A.
2. Pokrovsky VI, Onishchenko GG, Cherkasskiy BL. Evolution of infectious diseases in Russia in XX century. *Moscow. Meditsina*; 2003: 664 (in Russ)
3. Abaev YuK. Evolution of diseases and nosological principle in medicine. *Meditsinskiye novosti*. 2008;4:8–15. (in Russ).
4. Uchaikin VF, Shamsheva OV. Evolution of childhood infections. *Detskiye infektsii*. 2010;3:3–6. (in Russ).
5. Dubov AV. Ecological homeorhesis in the mechanisms of virulence evolution and penetration of agents of feral herd infetions into humans. *Detskiye infektsii*. 2014; 3:36–39. (in Russ).
6. Korenberg EI. Tick-borne encephalitis. Evolution of infectious diseases in Russia in the twentieth century. *Moscow. Meditsina*. 2003;387–404. (in Russ).
7. Gorchakovskaya NN, Preobrazhenskaya NK, Okulova NM, et al. Variations of population components of biocenosis ticks focus (Salair ridge) and destruction of natural focus by acaricides. Extended Conference of Committee of struggle with Tick-borne encephalitis. Omsk;1962:48–50. (in Russ).
8. Korotkov YuS, Shelanova GN, Bogdanova NG. Dynamics of Tick-borne encephalitis incidence in Udmurtia during of half century (1957–2007). *Meditsinskaya virusologiya*. 2008; XXV:80–89. (in Russ).
9. Zhukova NG, Komandenko NI, Podoplyokina LE. Tick-borne encephalitis in Tomsk region. *Tomsk: STT*. 2002:254. (in Russ).
10. Zlobin VI, Lvov DK. Tick-borne encephalitis. In: *Meditsinskaya virusologiya: Handbook*. Moscow: Meditsinskoye informatsionnoye agentstvo. 2008:548–552. (in Russ).
11. Ladygin OV, Bykov IP, Romanenko VV, et al. Analysis of Tick-borne encephalitis incidence on Middle Ural at period 2011–2015. *Natsionalnyye priorityty Rossii*. 2016;4:41–44. (in Russ).
12. Epidemiology, ethiology, clinical picture, diagnostics, treatment and prophylaxis of Tick-borne encephalitis. *Metodicheskiye ukavania (Methodical recommendations) of Sverdlovsk regional center of medical prevention. «Ex-Press»*. 2004:72. (in Russ).
13. Gerasimov SG, Smirnova LV, Razumovsky SL, et al. Epidemic situation of tick-borne encephalitis in regions of Central Federal district of Russia. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye*. 2019;8:4(31):17–23. (in Russ).
14. Shcherbinina MS, Skrynnik SM, Levina LS, et al. The state of post-vaccination immunity to tick-borne encephalitis virus in the population of a highly endemic territory under the conditions of the dominance of the siberian subtype of the pathogen. *Epidemiology & Vaccinal Prevention*. 2018;17(2):27–36. (in Russ).
15. Goldfarb LG. The research of epidemiologic process by Tick-borne encephalitis in connect with prophylaxis problems. *Moscow*. 1973. (in Russ).
16. Kucheruk VV. Selected works (Izbrannyye Trudy). *Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK*; 2006: 405. (in Russ).
17. Hokhutkin IM, Bolshakov VN, Berdugin KI, et al. Ecologic problems of Tick-borne-encephalitis in antropogenic environment. In: *Materials of scientific-practical conference «Perfection of population protection from nature and technogenic emergency situations in Ural region»*. 28–29 Apr 1998. Ekaterinburg. 1998:110–111. (in Russ).
18. Koshkina TV, Chumakov MP, Sarmanova ES, et al. Comparative characterization of Tick-borne-encephalitis foci in Central and North-West parts of Vologda region. *Voprosy meditsinskoy virusologii*. 1975:306–307. (in Russ).
19. Lesnikova MV, Lesnikov IR, Filonenko IV. The features of Tick-borne encephalitis in Vologda Region territory. *Meditsinskaya virusologiya*. 2007;XXIV:53–58. (in Russ).
20. Ternovoi VA, Kononova YuV, Moskvitina NS, et al. Tick-borne encephalitis virus in city and suburban biotopes of Tomsk. In: *Vserossiiskaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Sovremennyye nauchnyye i prikladnyye aspekty kleshchevogo entsefalita»*; 15–16 Nov 2007. Moscow. 2007:110–120. (in Russ).
21. Alekseev AN, Dubinina HV, Jushkova OV. Influence of anthropogenic pressure on the system «tick-tick-borne pathogens». *Sofia-Moscow-St-Petesburg: Pensoft*. 2010:190. (in Russ).
22. Nikitin AY, Kozlova YuA, Pradedova EV, et al. Phenotypic and genotypic variety of Ixodes persulcatus on Irkutsk region territory. *Zhurnal infektsionnoy patologii*. 2009;16(3):156–160. (in Russ).
23. Zanutto PM, Gao GF, Grigsun TS, et al. An Arbovirus cline across the Northern Hemisphere. *Virology*. 1995;210:152–159.
24. Korotkov YuS. Changes of areals I. ricinus and I. persulcatus during of half century. *Meditsinskaya virusologiya*. 2017;XXXI (Suppl 1):29. (in Russ).
25. Erman BA, Drozdova LI, Zaytseva LN, et al. Pathologic anatomy of modern Tick-borne encephalitis in Ural. *Ekaterinburg: UrGSKhA*. 1999:85 (in Russ).
26. Volkova LI, Obratsova RG. Clinical picture of acute Tick-borne encephalitis in Middle Ural. In: *Volkova LI, Somova-Isachkova LM, editors. Kleshchevoy entsefalit*. Vladivostok; 2002:88–98. (in Russ).
27. Ierusalimskiy AP. Kleshchevoy entsefalit. *Handbook for doctors*. Novosibirsk: Novosib. gos. med. Academia. Novosibirsk. 2001:360. (in Russ).
28. Volkova LI, Kovtun OP, Galunova AB. Clinical picture of acute and chronic forms of Tick-borne encephalitis in Middle Ural. *Vestnik UGMA*. 2010;21:59–69 (in Russ).
29. Leonova GN. Tick-borne encephalitis: current aspects. *Moscow: I.V. Balabanov*; 2009:168. (in Russ).
30. Obratsova RG. Pathomorphosis of Tick-borne encephalitis in Middle Ural. *Ekaterinburg: UrGSKhA, Ural'skoye indatelstvo*. 2008:228. (in Russ).
31. Andaev EI, Trukhina AG, Karan LS, et al. Tick-borne encephalitis in Chita region and ethiology of focal lethal forms. *Bulletin SD RAMS*. 2007;4(126):60–65. (in Russ).
32. Ternovoy VA, Kurzhukov GP, Sokolov YV, et al. Tick-borne encephalitis virus with Haemorrhagic syndrome, Novosibirsk Region, Russia, 1999. *Emerging Infectious Diseases*. 2003;9:743–746.
33. Zlobin VI, Verkhovina MM, Demina TV, et al. Molecular epidemiology of Tick-borne encephalitis. *Voprosy virusologii*. 2007;6:4–13. (in Russ).
34. Grard G, Moureau G, Charrel RH, et al. Genetic characterization of tick-borne flaviviruses: new insight into evolution, pathogenetic determinants and taxonomy. *Virology*. 2007;361(1):80–92.
35. Loktev VB. Tick-borne encephalitis virus. Genetic features, variability in modern world. *Bulletin SD RAMS*. 2007;4(126):14–21. (in Russ).
36. Pogodina VV, Karan LS, Kolyasnikova NM, Levina LS, Malenko GV, Gamova EG, et al. Evolution of Tick-borne Encephalitis virus and problem of evolution of infectious agent. *Voprosy virusologii*. 2007;5:16–20. (in Russ).
37. Karan LS, Pogodina VV, Frolova TV, et al. Genetic divergences of Eastern Europe and Asiatic population of Siberian subtype Tick-borne Encephalitis virus. *Bulletin SD RAMS*. 2006;5 (1):24–27. (in Russ).
38. Kolyasnikova NM. Monitoring of Tick-borne Encephalitis virus populations in Ural, West Siberian and Nord-Western regions of Russia (virologic and molecular-biologic investigations) [dissertation]. *Moscow*. 2008:216. (in Russ).
39. Efmova AR, Karan LS, Drozdova OM, et al. Modern epidemiologic situation by Tick-borne Encephalitis and genetic divergences of TBE on territory of Kemerovo region. *Meditsinskaya virusologiya*. 2015;XXIX (1):3–15. (in Russ).
40. Kozlova IV, Verkhovina MM, Demina TV, et al. Eastern Siberia – unique territory of habitation different genotypes and genovariants of Tick-borne encephalitis virus. *Meditsinskaya virusologiya*. 2017;XXXI (Suppl 1):27. (in Russ).
41. Karan LS, Braslavskaya SI, Myazin AE. The development of methods for Tick-borne encephalitis virus detection and genotyping based on amplification technologies. *Voprosy virusologii*. 2007;6:17–21. (in Russ).
42. Khasnatinov MA, Danchinova GA, Kulakova NV, et al. Genetic characteristics of ethiological agent of Tick-borne Encephalitis in Mongolia. *Voprosy virusologii*. 2010;3:27–32. (in Russ).
43. Gerasimov SG. Evolution of Tick-borne Encephalitis in the Central Federal district of Russia. Modeling the change of pathogen subtypes in an experiment [dissertation]. *Moscow*. 2012:212. (in Russ).
44. Mel'nikova OV, Adelsin RV, Trushina YuN, et al. Investigation of territory Tyva republic for some natural-focal infections. *Infektsionnye bolezni*. 2017;12(4):48–55. (in Russ).
45. Verkhovina MM. Molecular epidemiology end ecology of Tick-borne Encephalitis virus in Eastern Siberia [dissertation]. *Irkutsk*. 2014:369. (in Russ).
46. Pogodina VV, Karan LS, Kolyasnikova NM, et al. Polytype strains in genofund of Tick-borne Encephalitis virus. *Voprosy virusologii*. 2012;3:30–36. (in Russ).

47. Lesnikova MV, Kolyasnikova NM, Smelkov SN. Epidemiologic situation by Tick-borne Encephalitis in Vologda region on modern stage. *Meditsinskaya virusologia*. 2015;XXIX(2):94. (in Russ).
48. Pogodina VV, Frolova MP, Erman BA. Chronic Tick-borne Encephalitis. Etiology, immunology, pathogenesis. Novosibirsk. 1986:232 (in Russ).
49. Kovalev SYu, Muhacheva TA. Problem of replacement of genotypes of Tick-borne Encephalitis in Ural during last 60 years. *Zhurnal Nacionalnye priority Rossii*. 2011;2(5):151–153. (in Russ).
50. Lipin SI, Zhezmer VYu. To the problem of evolution of natural focuses of Tick-borne Encephalitis in Eastern Siberia (Cisbaicalia). In: *Prirodno-ochagovye infectsii v rayonah narodnokhozyaistvennogo osvoenia Sibiri i Dal'nego Vostoka*. Omsk: Omskiy Med. In-t. 1983:36–40. (in Russ).
51. Khasnatinov MA, Ustanikova K, Frolova TV, et al. Point mutations in protein E of Tick-borne Encephalitis virus determine loss of hemagglutinating activity and enhance of nevirremical transmission to new tick-vector. *Meditsinskaya virusologia*. 2009;XXIV:132–133. (in Russ).
52. Smorodintsev AA, Drobyshvskaya AI, Il'enko VN. Etiology and ummunology of two-wave viral meningoencephalitis. *Novosti meditsiny*. 1953;38:44–51. (in Russ).
53. Chumakov MP, Belyaeva AP, Drozdov SG. About etiology of two-wave milk fever and its relationship with Omsk haemorrhagic fever, Tick-borne encephalitis and Louping ill. 1954. *Tez. dokl. na 7 sessii AMN SSSR*. Moscow. 1954:37–39. (in Russ).
54. Ecker M, Allison S, Meixner T, et al. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. *Journal General Virology*. 1999;80:179–185. (in Russ).
55. Makenov M, Karan L, Shashina N, et al. First detection of Tick-borne encephalitis virus in Ixodes ricinus ticks and their rodents hosts in Moscow, Russia. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2019 Oct; 10(6):101265. doi: 10.1016/j.tiddis.2019.101265.
56. Zhdanov VM. Evolution of viruses. Moscow: Meditsina; 1980: 374 (in Russ).
57. Malenko GV, Pogodina VV, Karmysheva VYa. Streptomycin-activator of persistent tick-borne encephalitis virus. *Voprosy virusologii*. 1984;2:217–223. (in Russ).
58. Malenko GV, Pogodina VV, Frolova MP, et al. Strategy for selecting antibiotics for the treatment of bacterial infections associated with chronic tick-borne encephalitis. *Voprosy virusologii*. 1996;3:13859. Alekseyev AN, Dubinina EV, Vashukova MA, et al. Borrelia as probable antagonists of tick-borne encephalitis virus: parasitological and clinical aspects of the problem. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 2001;3:3–11. (in Russ).
60. Karavanov AS, Pivanova GP, Bychkova MV, et al. Dynamics of humoral immunity to Tick-borne encephalitis virus among population of three regions. *Voprosy virusologii*. 1988;5:633–638. (in Russ).
61. Noskov AK, Il'in VP, Andaev EI, et al. Morbidity rates as regards Tick-borne encephalitis in Russian Federation and across Federal Districts in 2009–2013. *Epidemiological Situation in 204 and prognosis for 2015. Problemy osobo opasnyh infektsii*. 2015; 1: 46–50 (in Russ).
62. Dubinin NP, Zasukhina GD, L'vova GN, et al. Synthesis of virus-induced interferon at exposure of irradiation and chemical mutagens. *Doklad RAN*. 1977; 232: 680–682 (in Russ).
63. Romanenko VV, Ankudinova AV, Kilyachina AS. Efficiency of massive vaccination program of Tick-borne encephalitis in Sverdlovsk region. *Vestnik UGMA*. 2010; 21: 125–132 (in Russ).
64. Yesunina MS. Modern tendencies of Tick-borne encephalitis in conditions of different immunizations tactics and improvement of epidemiologic supervision and control [dissertation]. Perm: 2015:153 (in Russ).
65. Pogodina VV, Shcherbinina MS, Gerasimov SG, Kolyasnikova NM. Modern problems of specific prevention of tick-borne encephalitis. Message I: vaccination in the zone of dominance of the Siberian subtype of the pathogen. *Epidemiology & Vaccinal Prevention*. 2015;14:77–84, (in Russ).
66. Pogodina VV, Shcherbinina MS, Skrynnik SM, et al. Epidemiological situation of tick-borne encephalitis and vaccination in the Kurgan region (1983–2017). *Epidemiology & Vaccinal Prevention*. 2018;17: 46–56. (in Russ).
67. Lesnyak OM, Ponomarev DN, Volkova LI, et al. Some aspects of Lyme Borreliosis epidemiology in Sverdlovsk region. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 1995;1:7–19. (in Russ).
68. Volkova LI, Ankudinova MV, Rudakov IL, et al. Clinical and epidemiological features of mixed infections transmitted by Ixodes ticks in Sverdlovsk region. In: *Nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Kleshchevye borreliozy»*; 2002 Nov 19–21. *Izhevsk*. 2002:89–91. (in Russ).
69. Kozlov LB, Mefod'ev VV, Ogurtsov AA. Mixed infection of Lyme borreliosis and Tick-borne encephalitis in Tumen' region. In: *Nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Kleshchevye borreliozy»*; 2002 Nov 19–21. *Izhevsk*; 2002. P. 161–162 (in Russ).
70. Konkova-Reidman AB, Zlobin VI, Tarasov VN, et al. Epidemiologic characteristics of obligate transmissive Tick-borne infections in South-Ural region of Russia. *Epidemiology & Vaccinal Prevention*. 2010;17(3):79–81. (in Russ).
71. Dement'ev AV, Apalkova EN, Subbotin AV, et al. In: *Nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Kleshchevye borreliozy»*; 2002 Nov 19–21. *Izhevsk*. 2002:121–122. (in Russ).
72. Demina TV, Dzhiyev YP, Verkhovina MM, et al. Genotyping and characterization of the geographical distribution of tick-borne encephalitis virus variants with a set of molecular probes. *Journal of medical virology*. 2010;82:965–976.
73. Dobler G, Tkachev S. General epidemiology of Tick-borne encephalitis. In: Erber W, Dobler G, Schmitt H-J, editors. *Tick-borne-encephalitis (TBE)*. Singapour: Global Health Press Pte Ltd; 2018:103–110.
74. Hubalek Z, Rudolf I. Tick-borne encephalitis viruses in Europe. *Parasitology Research*. 2012;111:9–36.
75. Abdiyeva K, Turebekov N, Shapiyeva Z, et al. The south of Kazakhstan is a hotspot for the Siberian Subtype of Tick-borne encephalitis virus. In: *15-th Medical Biodefense Conference abstracts*. 2016 Apr 26–29; Munich, Germany. 2016:31.
76. Hay J, Keh KB, Dasgupta D, et al. Biosurveillance in Central Asia: Successes and Challenges of Tick-borne Disease Research in Kazakhstan and Kyrgyzstan. *Front Public health*. 2016;4:4.
77. Kim SY, Yun SM, Han MG, et al. Isolation of Tick-borne encephalitis viruses from wild rodents, South Korea. *Vector Borne Zoonotic Diseases*. 2008;8:7–13.
78. Kim SY, Jeong YE, Yun SM, et al. Molecular evidence for Tick-borne encephalitis virus in ticks in South Korea. *Medical and Veterinary Entomology*. 2009;23:15–20.
79. Yun SM, Kim SY, Ju YR, et al. First complete genomic characterization of two Tick-borne encephalitis virus isolates obtained from wild rodents in South Korea. *Virus Genes*. 2011;42:307–16.

Об авторах

- **Надежда Михайловна Колясникова** – к. м. н., заведующая лабораторией клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова. +7(963)693-0814, kolyasnikova_nm@chumakovs.su. orcid.org: 0000-0002-9934-2582.
- **Сергей Геннадьевич Герасимов** – к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова, ассистент кафедры инфекционных болезней Первого МГМУ им. И. М. Сеченова. +7 (903)224-6530, gsg1984@mail.ru. orcid.org: 0000-0001-5505-2228.
- **Айдар Айратович Ишмухаметов** – генеральный директор ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова. +7(495) 841-90-02, sue_polio@chumakovs.su. orcid.org: 0000-0001-6230-4145.
- **Ванда Вацлавовна Погодина** – д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова. +7(495)841-9003, pogodina_v_v@mail.ru. orcid.org: 0000-0002-0363-2164.

Поступила: 24.03.2020. Принята к печати: 27.05.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Nadezhda M. Kolyasnikova** – Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of TBE and other viral encephalitis of the Chumakov FSC R&D IPR RAS. +7(963)693-0814, kolyasnikova_nm@chumakovs.su. orcid.org: 0000-0002-9934-2582.
- **Sergey G. Gerasimov** – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the laboratory of TBE and other viral encephalitis of the Chumakov FSC R&D IPR RAS, assistant of the Department of infectious diseases of the Sechenov First Moscow State Medical University. +7 (903)224-6530, gsg1984@mail.ru. orcid.org: 0000-0001-5505-2228.
- **Aidar A. Ishmukhametov** – Dr. Sci. (Med.), of the Chumakov FSC R&D IPR RAS. +7(495) 841-90-02, sue_polio@chumakovs.su. orcid.org: 0000-0001-6130-4145.
- **Vanda V. Pogodina** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher of the laboratory of TBE and other viral encephalitis of the Chumakov FSC R&D IPR. +7(495)841-9003, pogodina_v_v@mail.ru. orcid.org: 0000-0002-0363-2164.

Received: 24.03.2020. Accepted: 27.05.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94>

Микробиологические и эпидемиологические особенности микобактериозов

И. В. Петров^{1,2}, Т. Х. Амирова*¹, Л. В. Петрова^{1,3},
Ф. С. Петрова¹, Э. В. Севастьянова⁴, Р. И. Валиев²

¹ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет», г. Йошкар-Ола

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Казань

³ГБУ РМЭ «Республиканский противотуберкулезный диспансер», г. Йошкар-Ола

⁴ФГБНУ «ЦНИИ туберкулёза», Москва

Резюме

Актуальность. Группа нетуберкулезных микобактерий включает более 200 видов, из которых порядка 50 являются возбудителями микобактериальных инфекций, или микобактериозов, которые клинически и рентгенологически схожи с туберкулезом. Микобактериозы представляют собой мультидисциплинарную, недостаточно изученную проблему. **Цель** – обобщить современные представления о данных заболеваниях. **Заключение.** В обзоре представлена информация по основным аспектам рассмотренной проблемы: определены особенности экологии и диагностики нетуберкулезных микобактерий, описана эпидемиология данных заболеваний, установлена возможность вариативности клинических проявлений микобактериозов, в т. ч. среди иммунокомпрометированных лиц и на примере инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Особое внимание уделено возрастающей необходимости разработки нормативно-правовых документов, касающихся профилактики, диагностики и лечения инфекций, вызываемых нетуберкулезными микобактериями.

Ключевые слова: нетуберкулезные микобактерии, микобактериозы, эпидемиология, лабораторная диагностика
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Петров И. В., Амирова Т. Х., Петрова Л. В. и др. Микробиологические и эпидемиологические особенности микобактериозов. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020;19(3):89–94. [https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94).

Microbiological and Epidemiological Features of Mycobacteriosis

IV Petrov^{1,2}, TKh Amirova**¹, LV Petrova^{1,3}, FS Petrova¹, EV Sevastyanova⁴, RI Valiev²

¹Mari State University, Yoshkar-Ola

²Kazan Medical University

³Republican TB DispensaryRepublican, Yoshkar-Ola

⁴Central research Institute of tuberculosis, Moscow

Abstract

Relevance. The group of non-tuberculous mycobacteria includes more than 200 species, of which about 50 are causative agents of mycobacterial infection or mycobacteriosis, which is clinically and radiologically similar to tuberculosis. Mycobacteriosis is a multi-disciplinary, insufficiently studied, problem. **The purpose of the article** is to summarize modern ideas about this disease. **Conclusion.** The review provides information on the main aspects of the considered problem: the environmental features and diagnostics of non-tuberculous mycobacteria are determined, the epidemiology of this disease is described, the possibility of the variability of the clinical manifestations of mycobacteriosis, including among immunocompromised patients and the example of infection associated with the provision of medical care. Particular attention is paid to the growing need to develop regulatory documents regarding the prevention, diagnosis, and treatment of infections caused by non-tuberculous mycobacteria in the Russian Federation.

Keywords: non-tuberculosis mycobacteria, mycobacteriosis, epidemiology, laboratory diagnostics
No conflict of interest to declare.

For citation: Petrov IV, TKh Amirova, LV Petrova et al. Microbiological and Epidemiological Features of Mycobacteriosis. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2020;19(3):89–94. (In Russ.). [https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94).

* Для переписки: Амирова Танзила Хафизовна, к. м. н., доцент кафедры фундаментальной медицины. Марийского государственного университета. 424000, РМЭ, г. Йошкар-Ола, площадь Ленина, д. 1. +7-902-433-71-41, tanzilya.amirova.85@mail.ru. ©Петров И. В. и др.

** For correspondence: Amirova Tanzila Hafizovna, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor at Department of Fundamental Medicine of Mari State University, 1 Lenin Square, Yoshkar-Ola, 424000, Republic of Mari El. +7-902-433-71-41, tanzilya.amirova.85@mail.ru. ©Petrov IV et al.

Нетуберкулезные микобактерии (НТМБ, атипичные микобактерии) повсеместно распространены в окружающей среде и рассматриваются как сапрофиты или условно-патогенные, относящиеся к группе грамположительных, кислотоустойчивых, неспорообразующих бактерий, представителей рода *Mycobacterium*. В настоящее время в группу НТМБ входят более 200 видов, из которых около 50 являются возбудителями микобактериозов, клинически и рентгенологически схожих с туберкулезом [1–3].

Наиболее подробно описаны пять комплексов НТМБ: *M. avium complex* (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*); *M. fortuitum complex* (*M. fortuitum*, *M. chelonae*); *M. terrae complex* (*M. terrae*, *M. triviale*, *M. nonchromogenicum*); *M. mucogenicum-phocaicum complex*; *M. intracellularechimaera complex* [4–6].

Цель настоящей работы – обобщить и проанализировать представленные в отечественной и зарубежной литературе данные об эпидемиологии, диагностике и некоторых клинических проявлениях микобактериозов, а также гигиенических особенностях и экологии НТМБ.

В представленном обзоре были использованы публикации текстовой базы медицинских данных PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), материалы из научной электронной библиотеки (<http://elibrary.ru>), библиотечных фондов Марийского государственного университета и Казанского государственного медицинского университета за 1996–2019 гг.

Экология НТМБ

Атипичные микобактерии (Environmental mycobacteria – англ. яз., термин ввел М. Pinner, 1935) широко распространены в окружающей среде (вода, почва, антропогенные сооружения и т.д.).

Финские исследователи указывают, что наличие НТМБ в водопроводной системе является гигиенической проблемой: в коммунальных водопроводных системах часто обнаруживаются микобактерии из данной группы, и в большинстве случаев они представлены *M. lentiflavum*, *M. tusciae*, *M. gordonae*. Водопроводная вода подвергается воздействию дезинфектантов, которые формируют устойчивость НТМБ к хлорсодержащим средствам. Человеческая деятельность изменяет экологию НТМБ, способствуя выживаемости наиболее устойчивых микобактерий. Отмечено, что в окружающей среде происходит смена штаммов с *M. scrofulaceum* на *M. avium*, причем последние отличаются способностью вызывать цервикальные лимфадениты у детей [7].

Таким образом, инфицированная водопроводная вода может рассматриваться как возможный фактор передачи возбудителя микобактериоза.

Пути и факторы передачи микобактериозов

Установлено, что в основном НТМБ попадают в организм человека аспирационным путем,

а именно при вдыхании аэрозолей, образующихся над верхними слоями почвы, естественными и искусственными водоемами. Однако исследователи отмечают, что возможность заболеваний микобактериозами зависит не только от внешних факторов окружающей среды, которая может содержать повышенную концентрацию данных бактерий, но и от наличия иммунокомпрометированных или иных предрасполагающих состояний, вследствие чего микобактериозы характеризуют как оппортунистические инфекции [8–10].

Исследователи приходят к выводу, что передача микобактериальной инфекции от человека к человеку маловероятна. Однако данный вопрос требует углубленной оценки ввиду разновидности группы НТМБ [11–14].

Эпидемиология микобактериозов

В Российской Федерации отсутствуют нормативные, правовые и методические документы, которые бы регулировали и определяли порядок организационных, профилактических, диагностических и лечебных мероприятий при инфекции, вызываемой НТМБ. Данный факт затрудняет проведение адекватной оценки эпидемиологической ситуации по микобактериозам [15,16].

Однако ряд отечественных специалистов смогли описать эпидемиологическую обстановку в ряде регионов РФ по НТМБ в 2011–2017 гг. Так, установлено, что наиболее распространенными НТМБ являются виды, которые принадлежат к комплексу *M. avium* (MAC) (38,24%), при этом в 0,41% (3 случая) случаев это смешанная культура *M. avium* и *M. intracellulare* (Московский регион) и в 0,14% (1 случай) – *M. avium* и *M. kansasii* (г. Ростов-на-Дону). Встречаемость комплекса MAC среди медленно-растущих НТМБ составила 49,29%, однако стоит отметить некоторые выявленные региональные особенности. Так, комплекс MAC среди медленно-растущих НТМБ преобладал в Центральном федеральном округе, г. Калининграде, европейской части Приволжского федерального округа, а также г. Оренбурге. В г. Ростове-на-Дону и г. Перми комплекс MAC встречался примерно на одном уровне с *M. gordonae*. Отдельно хочется отметить г. Ханты-Мансийск, где комплекс MAC обнаруживался реже, чем *M. gordonae*, и в то же время в комплексе преобладали *M. intracellulare*, а не *M. avium*. Отмечаются в ряде регионов и другие отличия, не касающиеся MAC. Так, в г. Сыктывкаре отсутствует *M. kansasii*, в Московском регионе отмечена высокая распространенность *M. xenopi*. Последний вид не встречается или обнаруживается единично в г. Ростове-на-Дону, в Северо-Западном федеральном округе, г. Екатеринбурге, ряде субъектов европейской части Приволжского федерального округа. Установлено, что *M. lentiflavum* является микрофлорой дыхательных путей при суммарной встречаемости 9,08%. Особенно часто этот вид отмечался в Московском регионе, а в г. Сыктывкаре

является преобладающим представителем НТМБ. При характеристике эпидемиологической обстановки, связанной с быстрорастущими НТМБ, отмечено, что превалирует вид *M. fortuitum* (40,49% от общего числа быстрорастущих НТМБ, кроме Московского региона) [17].

Что касается зарубежных данных, то в США, например, показатель распространенности микобактериозов составляет 1,8 на 100 тыс. населения, при этом около 60% из них вызываются *M. avium complex* (MAC). Кроме того, в литературе есть данные, указывающие на рост заболеваемости микобактериозами в ряде стран западной Европы (Великобритания, Нидерланды, Дания, Испания), а также в Японии и Бразилии [18].

Несмотря на то, что НТМБ рассматриваются как условно-патогенные бактерии, во всем мире растет заболеваемость микобактериозами в силу нарушения санитарно-эпидемиологических норм, ухудшения эколого-гигиенической обстановки, а также снижения иммунологической реактивности популяции человека.

Лабораторная диагностика НТМБ

В настоящее время при диагностике микобактериозов используются три основных метода – культуральный, микроскопия биологического материала на кислотоустойчивые микроорганизмы и молекулярно-генетический. Так, специалисты фтизиатрической службы Республики Марий Эл (РМЭ) занимаются идентификацией микобактериозов с 1990-х гг. В Республиканском противотуберкулезном диспансере РМЭ выявление микобактерий проводят с использованием стандартных методов: люминесцентной микроскопии; культурального на плотных и жидкой питательных средах, полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) (Синтол, Россия). Первичную идентификацию выделенных культур осуществляют с помощью иммунохроматографического теста (ID-test TB Ag MPT64 Rapid; Standard Diagnostics, Корея и ID-test BD MGIT™ TBc Identification Test, США) и микроскопического исследования препаратов культур с окраской по Цилю-Нильсену. Видовую идентификацию микобактерий осуществляют с использованием молекулярного метода, основанного на множественной обратной гибридизации с ДНК-зондами: тест-системы для идентификации НТМБ GenoType® *Mycobacterium* CM/AS (Hain Lifescience, Германия) [19,20].

При этом наиболее распространенным методом диагностики микобактериозов остается культуральный, при котором необходимо учитывать имеющиеся отличия условий культивирования группы НТМБ от микобактерий туберкулеза [21–24].

Ввиду широкой распространенности НТМБ в окружающей среде, в том числе в условиях медицинской организации, существует проблема корректной диагностики микобактериозов в бактериологической лаборатории. При бактериологическом лабораторном

исследовании культуры НТМБ имеется риск, что полученный положительный результат может свидетельствовать не только о наличии патологического процесса, но также и о возможной контаминации образца из внешней среды или бессимптомной колонизации органов и систем больного. Этот вопрос требует решения для обеспечения противоэпидемического режима в бактериологических лабораториях путем включения исследований на НТМБ при проведении микробиологического мониторинга объектов лабораторий [25].

Сложность в лабораторной диагностике микобактериозов связана с неоднородностью микобактерий и разделением НТМБ на группы в зависимости от скорости роста на питательных средах и пигментообразования. В исследовании, проведенном в Сибирском федеральном округе (СФО) в 2014–2015 гг., установлено, что НТМБ, выделенные от пациентов противотуберкулезных организаций СФО, характеризуются одинаковой частотой медленно и быстро растущих НТМБ. Однако при этом стоит отметить, что за исследованный период доля медленно растущих НТМБ выросла в 4,2 раза в сравнении с данными 2013–2014 гг. Авторы отметили, что на территории Российской Федерации врачи фтизиатрической службы регистрируют только данные о частоте выделения изолятов НТМБ в общей структуре культуральной диагностики туберкулезной инфекции. К тому же авторы проведенного исследования указали, что в 2014 г. доля высеваемости НТМБ составила 1,5% в противотуберкулезных организациях СФО. Исследователи обратили внимание на необходимость и важность применения методов идентификации микобактерий на этапе первичного выделения культуры [26]. Данный этап особенно важен для оперативного назначения адекватной терапии.

Микобактериозы как инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи

Отдельный вопрос представляет вероятность инфицирования НТМБ в условиях медицинской организации. Раны могут рассматриваться как возможные входные ворота для микобактериальной инфекции в организм пациента и поражения костей и суставов [27,28].

Имеются данные о рисках, связанных с проведением инъекций, а также при использовании инфицированных дезинфицирующих растворов. Известны случаи вспышек микобактериозов, связанные с оказанием медицинской помощи в результате использования воды для диализа и дистиллированной воды, которые были контаминированы НТМБ [29,30].

Описана связь между возникновением микобактериальной инфекции и проведением хирургических вмешательств (например, стернотомия, пластическая хирургия), липосакции, длительным использованием внутривенных катетеров, применением тимпаностомических трубок в среднем ухе [31–33].

Данные факты позволяют сделать вывод, что микобактериозы могут рассматриваться как инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, а инфицированные НТМБ растворы, используемые при медицинских вмешательствах, как фактор передачи НТМБ. Данная проблема требует более углубленных исследований с учетом возрастающих требований к инфекционной безопасности в условиях медицинской организации и минимизации различных эпидемиологических рисков.

Некоторые клинические проявления микобактериозов

Установлено, что НТМБ способны поражать различные органы и системы человеческого организма. Например, в патологический процесс могут быть вовлечены легкие. В таком случае отмечается, что у пациентов с ВИЧ-отрицательным статусом микобактериозы неотличимы от туберкулеза и характеризуются медленным прогрессированием. У пациентов с ВИЧ-положительным статусом рентгенографическая картина может быть как нормальная, без патологий, или возможно выявление медиастинальной лимфоаденопатии, а также у иммунокомпromетированных пациентов микобактериозы могут быстро прогрессировать. Стоит отметить, что приверженность пациентов с ВИЧ-инфекцией к высокоактивной антиретровирусной терапии снижает частоту микобактериозов легких. При развитии данной инфекционной патологии с вовлечением лимфатической системы отмечено, что обычно НТМБ поражают шейные лимфатические узлы [8,34].

При микобактериозе кожи и мягких тканей возникают гранулематозные поражения. Микобактериозы костей и суставов зачастую провоцируются различными травмами и ведут нередко к развитию остеомиелита. Отдельное внимание уделяется возможности развития диссеминированной микобактериальной инфекции, особенно среди иммунокомпromетированных лиц [35].

Микобактериозы у иммунокомпromетированных пациентов

Микобактериозы распространяются среди иммунокомпromетированных лиц и довольно широко – среди ВИЧ-инфицированных [36,37].

Кроме того, в группы риска по заболеванию микобактериозами, вызванным НТМБ, включены больные туберкулезом. Данную сочетанную инфекцию (микст-инфекцию) достаточно сложно идентифицировать имеющимися в практике методами диагностики. Как известно, в инфекционном процессе, вызванном условно-патогенными микроорганизмами, значимую роль играет снижение общей резистентности и иммунной защиты организма, причинами которой являются преклонный

возраст индивида, лейкозы, пациенты, постоянно принимающие кортикостероиды, иммунодепрессанты и антибиотики [24,38,39].

Говоря о снижении иммунологической реактивности в российской популяции, стоит привести в качестве примера Оренбургскую область. В данном субъекте РФ среди ВИЧ-отрицательных лиц микобактериозы вызваны *M. aviumcomplex*, *M. xenopi*, *M. gordonae*, тогда как у ВИЧ-инфицированных среди случаев микобактериоза в большинстве случаев (около 75%) выделяется *M. avium* [40,41].

В другом российском регионе, в Якутии, у пациентов были идентифицированы НТМБ *M. scrofulaceum*, и *M. fortuitum*. Также было установлено, что у некоторых из них одновременно персистировали возбудители туберкулеза и комплекс *M. avium-intracellulare*. Однако у обследуемых лиц не уточнено наличие или отсутствие ВИЧ-инфекции [42].

В настоящее время исследования по выявлению микобактериозов среди ВИЧ-инфицированных проводятся и в Республике Марий Эл (РМЭ) [43]. За период регистрации ВИЧ-инфекции на территории РМЭ с 1990 г. по 2017 г. было выявлено 3 случая микобактериоза, ассоциированного с ВИЧ-инфекцией, из них 1 случай – микст-инфекции (ВИЧ-ассоциированный туберкулезный процесс и микобактериоз). Во всех трех случаях обнаружены *M. avium*. ВИЧ-инфицированные с микобактериозом имели различные показатели CD4 лимфоцитов (1 кл/мкл, 30 кл/мкл, 399 кл/мкл), что в целом соответствует литературным данным [24], кроме третьего значения клинико-лабораторного показателя (при уровне CD4 лимфоцитов 399 кл/мкл у ВИЧ-инфицированного пациента был установлен случай микст-инфекции – ВИЧ-ассоциированный туберкулез и микобактериозы) [25].

Заключение

Анализ литературных данных показал, что НТМБ широко распространены в окружающей среде. Инфицировать организм человека возбудители микобактериозов могут различными путями (через воздух, раневые поверхности и т.д.).

Реальная эпидемиологическая ситуация по микобактериальной инфекции в РФ остается неясной по причине отсутствия нормативно-правовых документов (диагностические, в т.ч. лабораторные, профилактические и клинические рекомендации, формы федерального статистического наблюдения и т.д.).

Микобактериозы могут рассматриваться как инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, что требует углубленной оценки ситуации (критерии микробиологического мониторинга объектов медицинской организации, проблема устойчивости к дезинфектантам и т.д.).

Литература

- Daley CL, Griffith DE. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2010;14(6):665–671.
- Griffith D, Aksamit T, Brown-Elliott B, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of non-tuberculosis mycobacterial diseases. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007;175(4):367–416.
- Mycobacterium avium complex infection: progress, research, and treatment. Ed.: Korvick JA, Benson CA. New York: Dekker. 1996.
- Долгова В. В., Меньшикова В. В. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
- Эргешов А. Э., Шмелев Е. И., Ковалевская М. Н. и др. Нетуберкулезные микобактерии у пациентов с заболеваниями органов дыхания (клинико-лабораторное исследование). *Пульмонология*. 2016;26(3):303–308.
- Adekambi T, Berger P, Raoult D, et al. RpoB gene sequence-based characterization of emerging non-tuberculous mycobacteria with descriptions of *Mycobacterium bolletii* sp. nov., *Mycobacterium phocaicum* sp. nov. and *Mycobacterium aubagnense* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2006;56:133–143.
- Адамбекова А. Д. Нетуберкулезные микобактерии и их классификация. *Известия ВУЗов Кыргызстана*. 2010;7:43–46.
- Heifets L. Mycobacterial infections caused by nontuberculous mycobacteria. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 2004;25(3):283–2953.
- Marras T, Daley C. Epidemiology of human pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria. *Journal Clinics in Chest Medicine*. 2002;23(3):553–567.
- Tortoli E, Rindi L, Garcia MJ, et al. Proposal to elevate the genetic variant MAC-A, included in the *Mycobacterium avium* complex, to species rank as *Mycobacterium chimaera* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004;54:1277–1285.
- Гунтупова Л.Д., Борисов С.Е., Соловьева И.П. и др. Микобактериозы во фтизиопульмонологической практике: обзор литературы и собственный опыт. *Практическая медицина*. 2011; 3 (51): 39–50.
- Billinger ME, Olivier KN, Viboud C, et al. Nontuberculous mycobacteria-associated lung disease in hospitalized persons, United States, 1998–2005. *Emerging Infectious Diseases*. 2009;15:1562–1569.
- Good RC. From the Center for Disease Control. Isolation of nontuberculous mycobacteria in the United States 1979. *The Journal of Infectious Diseases*. 1980;142:779–783.
- Matos ED, Santana MA, de Santana MC, et al. Nontuberculosis mycobacteria at a multidrug-resistant tuberculosis reference center in Bahia. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2004;8:296–304.
- Руководство по медицинской микробиологии. Книга III. Том второй. Оппортунистические инфекции: клинико-эпидемиологические аспекты. Оттен Т. Ф., Лабинская А. С., Волгина Е. Г., Ковалева Е. П., ред. М.: Бином. 2014.
- Эргешов А. Э., Шмелев Е. И., Ковалевская М. Н. и др. Выявление нетуберкулезных микобактерий у больных туберкулезом органов дыхания и хроническими заболеваниями бронхо-легочной системы. В сб.: Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины в России и за рубежом» 10 февраля 2016. Новосибирск. 2016.
- Смирнова Т. Г., Андреевская С. Н., Ларионова Е. Е. и др. Мониторинг видового разнообразия нетуберкулезных микобактерий в ряде областей РФ с использованием ДНК-стрипов GenoType *Mycobacterium CM/AS* (Hain Lifescience, Германия). *Туберкулез и болезни лёгких*. 2017;95(5):54–59.
- Фоменкова Н. В., Леонова О. Н., Виноградова Т. Н. и др. Атипичный микобактериоз – оппортунистическое заболевание у больных с ВИЧ-инфекцией. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2011;3:52–57.
- Соломай Т. В. Эпидемиологические особенности микобактериозов, вызванных нетуберкулезными микобактериями. *Санитарный врач*. 2015;3:30.
- Petrov IV, Novikova MO, Almkhametov AA, et al. Comparative characteristic of cases of mycobacteriosis and tuberculosis among HIV-infected patients. *Helix*, 2018;8(1):2988–2991.
- Лямин А. В., Исмагуллин Д. Д. Микобактериозы: особенности эпидемиологии и лабораторной диагностики. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2016;5–6:204–208.
- Лямин А. В., Жестков А. В., Исмагуллин Д. Д. и др. Лабораторная диагностика микобактериозов. *Вестник современной клинической медицины*. 2017;10(1):29–35.
- Chan ED, Kaminska AM, Gill W, et al. Alpha-1-antitrypsin (AAT) anomalies are associated with lung disease due to rapidly growing mycobacteria and AAT inhibits *Mycobacterium abscessus* infection of macrophages. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2007;39:690–696.
- Harmsen D, Dostal S, Roth A. RANDOM: Comprehensive and public sequence database for identification of *Mycobacterium* species. *BMC Infectious Diseases*. 2003;3:26.
- Альварес Фигероа М. В., Зюзю Ю. Р., Прокопенко А. В. и др. Диагностика сочетания туберкулеза и микобактериоза при ВИЧ-инфекции. *Туберкулез и социально-значимые заболевания*. 2015;4:50–58.
- Альховик О. И., Дымова М. А., Чередниченко А. Г. Распространенность нетуберкулезных микобактерий в Сибири. В сб.: Российско-китайская научно-практическая конференция по медицинской микробиологии и клинической микологии (XIX Кашкинские чтения) «Проблемы медицинской микологии»; 14–16 июня 2016. Санкт-Петербург; 2016.
- Литвинов В. И., Макарова М. В., Краснова М. А. Нетуберкулезные микобактерии и микобактериозы. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2011; 6:4–10.
- Литвинов В. И. Нетуберкулезные микобактерии в «неживой и живой природе», заражение человека. *Туберкулез и социально-значимые заболевания*. 2015; 2:28–33.
- Falkinham J. Nontuberculous mycobacteria in the environment. *Journal Clinics in Chest Medicine*. 2002;23:529–551.
- Falkinham J. Mycobacterial aerosols and respiratory disease. *Emerging Infectious Diseases*. 2003;9:763–767.
- Макарова М. В. Нетуберкулезные микобактерии: классификация, эпидемиология, патология у людей и животных, лабораторная диагностика. *Проблемы туберкулеза*. 2007;10:7–17.
- Оттен Т. Ф., Васильев А. В. Микобактериоз. СПб.: Медицинская пресса. 2005.
- Falkinham J. Ecology of nontuberculous mycobacteria – where do human infections come from? *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 2013;34(1):95–102.
- Thomson R. Changing epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacteria infections. *Emerging Infectious Diseases*. 2010;16(10):1576–1583.
- Tortoli E. Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009;15 (10):906–910.
- Вишневский Б. И., Маньчева О. А., Щеголева Р. А. и др. (Памяти Татьяны Фердинандовны Оттен). Вирулентность потенциально патогенных нетуберкулезных микобактерий. *Медицинский альянс*. 2015;4:5–14.
- Ortne JM, Ordwa DJ. Host response to nontuberculous mycobacterial infections of current clinical importance. *Infection and Immunity*. 2014;82(9):3516–3522.
- Вирус иммунодефицита человека: руководство для врачей. Пантелеев А. М., Беляков Н. А., Рахманова А. Г., ред. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр. 2010.
- Пархоменко Ю. Г., Ерохин В. В., Зюзю Ю. Р. и др. Патоморфологические изменения в легких при туберкулезе у умерших от ВИЧ-инфекции в стадии СПИДа. *Архив патологии*. 2007;3:26–28.
- Михайловский А. М., Чуркин С. А., Пашкова Н. А. и др. Первый случай посмертной диагностики генерализованного нетуберкулезного микобактериоза у больной на поздней стадии ВИЧ-инфекции в Оренбургской области. *Вестник современной клинической медицины*. 2016;9(5):88–93.
- Михайловский А. М., Чуркин С. А., Пашкова Н. А. и др. Частота выявления и особенности морфологии нетуберкулезного микобактериоза у больных на поздней стадии ВИЧ-инфекции (по данным Оренбургской области). *Туберкулез и болезни легких*. 2016;94(12):57–61.
- Прокопьева Н. И., Протодакьянова Г. П., Павлов Н. Г. и др. Нетуберкулезные (атипичные) микобактерии, выделенные от животных и людей. *Аграрный вестник Урала*. 2011;5:29–30.
- Петрова Л.В., Мельникова Е.И., Соловьев Ю.А. и др. Выявление нетуберкулезных микобактерий в Республике Марий Эл. *Туберкулез и болезни легких*. 2018;96(2):41–46.

References

- Daley CL, Griffith DE. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2010;14(6):665–671.
- Griffith D, Aksamit T, Brown-Elliott B, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of non-tuberculosis mycobacterial diseases. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007;175(4):367–416.
- Mycobacterium avium complex infection: progress, research, and treatment. Ed.: Korvick JA, Benson CA. New York: Dekker. 1996.
- Dolgov VV, Menshikov VV. Laboratory diagnostics: national leadership. Moscow. GEOTAR-Media; 2013. (In Russ.).
- Ergeshov AE, Shmelev EI, Kovalevskaya MN, et al. Non-tuberculosis mycobacteria in patients with respiratory diseases (clinical and laboratory research). *Bullet monologue*. 2016;26(3):303–308. (In Russ.).
- Adekambi T, Berger P, Raoult D, et al. RpoB gene sequence-based characterization of emerging non-tuberculous mycobacteria with descriptions of *Mycobacterium bolletii* sp. nov., *Mycobacterium phocaicum* sp. nov. and *Mycobacterium aubagnense* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2006;56:133–143.
- Adambekova AD. Non-tuberculous mycobacteria and their classification. *Proceedings Of The Universities Of Kyrgyzstan*. 2010;7:43–46. (In Russ.).
- Heifets L. Mycobacterial infections caused by nontuberculous mycobacteria. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 2004;25(3):283–2953.
- Marras T, Daley C. Epidemiology of human pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria. *Journal Clinics in Chest Medicine*. 2002;23(3):553–567.
- Tortoli E, Rindi L, Garcia MJ, et al. Proposal to elevate the genetic variant MAC-A, included in the *Mycobacterium avium* complex, to species rank as *Mycobacterium chimaera* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004;54:1277–1285.

11. Guntupova LD, Borisov SE, Solovyeva IP, et al. Mycobacteriosis in pulmonology practice: a literature review and own experience. *Practical medicine*. 2011;3(51):39–50. (In Russ.).
12. Billinger ME, Olivier KN, Viboud C, et al. Nontuberculous mycobacteria-associated lung disease in hospitalized persons, United States, 1998–2005. *Emerging Infectious Diseases*. 2009;15:1562–1569.
13. Good RC. From the Center for Disease Control. Isolation of nontuberculous mycobacteria in the United States 1979. *The Journal of Infectious Diseases*. 1980;142:779–783.
14. Matos ED, Santana MA, de Santana MC, et al. Nontuberculosis mycobacteria at a multiresistant tuberculosis reference center in Bahia. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2004;8:296–304.
15. Manual of medical Microbiology. Book III. Volume two. Opportunistic infections: clinical and epidemiological aspects. Ed.: Otten TF, Labinsky AS, Volgina EG, Kovaleva EP. Moscow. Binom. 2014. (In Russ.).
16. Ergeshov AE, Shmelev EI, Kovalevskaya MN, et al. Detection of non-tuberculosis myco-bacteria in patients with tuberculosis of the respiratory system and chronic diseases of the bronchopulmonary system. In sat.: International scientific and practical conference «Actual problems of medicine in Russia and abroad» February 10, 2016. Novosibirsk. 2016. (In Russ.).
17. Smirnova TG, Andrew SN, Larionov EA, et al. Monitoring of species diversity of nontuberculous mycobacteria in a number of regions of the Russian Federation with the use of DNA strips GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Germany). *Tuberculosis and lung disease*. 2017;95(5):54–59. (In Russ.).
18. Fomenkova NV, Leonova ON, Vinogradova TN, et al. Atypical mycobacteriosis is an opportunistic disease in patients with HIV infection. *Medical-biological and socio-psychological problems of safety in emergency situations*. 2011; 3: 52–57. (In Russ.).
19. Salomi T. V. Epidemiological features of mycobacteriosis caused by Neuber-kolesniki mycobacteria. *Sanitary doctor*. 2015; 3:30. (In Russ.).
20. Petrov IV, Novikova MO, Almukhametov AA, et al. Comparative characteristic of cases of mycobacteriosis and tuberculosis among HIV-infected patients. *Helix*, 2018;8(1):2988–2991.
21. Lyamin AV, Hismatullin DD. Mycobacteriosis: peculiarities of epidemiology and laboratory diagnostics. *Post-graduate Bulletin of the Volga region*. 2016;5–6:204–208. (In Russ.).
22. Lyamin AV, Zhestkov AV, Hismatullin DD, et al. Laboratory diagnosis of mycobacteriosis. *Bulletin of modern clinical medicine*. 2017;10(1):29–35. (In Russ.).
23. Chan ED, Kaminska AM, Gill W, et al. Alpha-1-antitrypsin (AAT) anomalies are associated with lung disease due to rapidly growing mycobacteria and AAT inhibits Mycobacterium abscessus infection of macrophages. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2007;39:690–696.
24. Harmsen D, Dostal S, Roth A. RANDOM: Comprehensive and public sequence database for identification of Mycobacterium species. *BMC Infectious Diseases*. 2003;3:26.
25. Alvarez Figueroa MV, Zyuzya YuR, Prokopenko AV, et al. Diagnosis of a combination of tuberculosis and mycobacteriosis in HIV infection. *Tuberculosis and socially significant diseases*. 2015;4:50–58. (In Russ.).
26. Alkhovik OI, Dymova MA, Cherednichenko AG. Prevalence of non-tuberculosis mycobacteria in Siberia. In sat.: Russian-Chinese scientific and practical conference on medical Microbiology and clinical Mycology (XIX Kashkin readings) «Problems of medical Mycology»; June 14–16, 2016. St. Petersburg; 2016. (In Russ.).
27. Litvinov VI, Makarova MV, Krasnova MA. Non-tuberculosis mycobacteria and mycobacteriosis. *Epidemiology and infectious diseases*. 2011;6:4–10. (In Russ.).
28. Litvinov VI. Non-tuberculosis mycobacteria in «inanimate and living nature», human infection. *Tuberculosis and socially significant diseases*. 2015;2:28–33. (In Russ.).
29. Falkinham J. Nontuberculous mycobacteria in the environment. *Journal Clinics in Chest Medicine*. 2002;23:529–551.
30. Falkinham J. Mycobacterial aerosols and respiratory disease. *Emerging Infectious Diseases*. 2003;9:763–767.
31. Makarova MV. Non-tuberculosis mycobacteria: classification, epidemiology, pathology in humans and animals, laboratory diagnostics. *The problem of tuberculosis*. 2007;10:7–17. (In Russ.).
32. Otten TF, Vasiliev AV. Mycobacteriosis. SPb.: Medical press. 2005. (In Russ.).
33. Falkinham J. Ecology of nontuberculous mycobacteria – where do human infections come from? *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 2013;34(1):95–102.
34. Thomson R. Changing epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacteria infections. *Emerging Infectious Diseases*. 2010;16(10):1576–1583.
35. Tortoli E. Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009;15(10):906–910.
36. Vishnevsky BI, Manicheva OA, Shchegoleva RA, et al. (in Memory of Tatyana Ferdinandovna Otten). Virulence of potentially pathogenic non-tuberculosis mycobacteria. *The copper Alliance*. 2015;4:5–14. (In Russ.).
37. Orme IM, Ordwa DJ. Host response to nontuberculous mycobacterial infections of current clinical importance. *Infection and Immunity*. 2014;82(9):3516–3522.
38. , Virus the human immunodeficiency: a guide for physicians. Ed.: Pantelev MA, Belyakova NA, Rakhmanova AG. SPb.: Baltic medical educational center. 2010. (In Russ.).
39. Parkhomenko YuG, Erokhin VV, Zyuzya YuR, et al. Pathomorphological changes in the lungs in tuberculosis in those who died of HIV infection in the AIDS stage. *Archives of pathology*. 2007;3:26–28. (In Russ.).
40. Mikhailovsky AM, Churkin SA, Pashkov NA, et al. The first case of generalized post-mortem diagnosis of nontuberculous mycobacteriosis in a patient with advanced HIV-infection in the Orenburg region. *Bulletin of modern clinical medicine*. 2016;9(5):88–93. (In Russ.).
41. Mikhailovsky A. M., Churkin, S. A., Pashkov N. A., et al. Frequency of detection and morphology of nontuberculous mycobacteriosis in patients with advanced HIV infection (according Orenburg region). *Tuberculosis and lung disease*. 2016; 94 (12): 57–61. (In Russ.).
42. Prokopyeva N, Protodyakonova GP, Pavlov NG, et al. Non-Tuberculosis (atypical) mycobacteria isolated from animals and humans. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2011;5:29–30. (In Russ.).
43. Petrova LV, Mel'nikova EI, Soloviev YA, et al. Identification of non-tuberculosis myco-bacteria in the Republic of Mari El. *Tuberculosis and lung disease*. 2018;96(2):41–46. (In Russ.).

Об авторах

- **Илья Владимирович Петров** – доцент в Марийском государственном университете; ассистент в Казанском государственном медицинском университете.
- **Танзиля Хафизовна Амирова** – к. м. н, доцент кафедры фундаментальной медицины Марийского государственного университета. 424000, РМЭ, г. Йошкар-Ола, площадь Ленина, д.1. +7-902-433-71-41, tanzilya.amirova.85@mail.ru.
- **Людмила Витальевна Петрова** – заведующая бактериологической лабораторией Республиканского противотуберкулезного диспансера г. Йошкар-Ола; ассистент в Марийском государственном университете.
- **Фируза Салаватовна Петрова** – специалист-эксперт отдела эпидемиологического надзора в Управлении Роспотребнадзора по Республике Татарстан; ассистент в Марийском государственном университете.
- **Элина Викторовна Севастьянова** – ведущий научный сотрудник Центрального научно-исследовательского института туберкулеза, Москва.
- **Рушан Ильгамович Валиев** – ассистент в Казанском государственном медицинском университете.

Поступила: 01.10.2019. Принята к печати: 27.05.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Ilya V. Petrov** – Associate Professor at Mari State University, Assistant Professor at Kazan State Medical University.
- **Tanzila H. Amirova** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor at Department of Fundamental Medicine of Mari State University, 1 Lenin Square, Yoshkar-Ola, 424000, Republic of Mari El. +7-902-433-71-41, tanzilya.amirova.85@mail.ru.
- **Lyudmila V. Petrova** – Head of Bacteriological Laboratory in Republican Tuberculosis Health of Mari El; Assistant Professor at Mari State University.
- **Firuz S. Petrova** – expert specialist of the Department of Epidemiological Surveillance Regional office of Rosпотребнадзор in the Republic of Tatarstan; Assistant Professor at Mari State University.
- **Elina V. Sevastyanova** – leading researcher at Central research Institute of tuberculosis, Moscow.
- **Rushan I. Valiev** – Assistant Professor, Kazan State Medical University.

Received: 01.10.2019. Accepted: 27.05.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.



**Доктор медицинских наук, профессор,
Заслуженный деятель науки РФ, признанный
специалист в области медицинской
микробиологии и эпидемиологии, ведущий
научный сотрудник ФГБУ НИЦ эпидемиологии
и микробиологии имени почетного академика
Н. Ф. Гамалеи Минздрава России
НАТАЛЬЯ НИКОЛАЕВНА КОСТЮКОВА
в июле отмечает прекрасный юбилей**

Н. Н. Костюкова родилась в г. Пушкин Ленинградской области в семье русского писателя и переводчика Николая Корнеевича Чуковского.

Окончив с отличием 1-й Московский медицинский институт, избрала путь ученого и посвятила свою жизнь служению медицинской науке. В 1947 г. она поступает в аспирантуру Московского НИИ им. И. И. Мечникова по специальности «Микробиология», после чего защищает кандидатскую диссертацию на тему «Микрофлора гематогенных остеомиелитов». Её трудовая деятельность продолжилась на кафедре микробиологии Ивановского государственного медицинского института под руководством И. Г. Акимова. В 1959–1961 гг. Наталья Николаевна Костюкова трудится в Московском НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова под руководством М. И. Хазанова, а затем становится старшим научным сотрудником лаборатории общей эпидемиологии НИИ ЭМ им. Н.Ф. Гамалеи АМН СССР. На этом этапе научного становления Н. Н. Костюкова сотрудничает с блестящим исследователем-эпидемиологом Л. А. Фаворовой. Совместная работа двух незаурядных творческих личностей способствовала формированию эпидемиологического мышления, реализуемого в последующих обобщающих публикациях, например, «Уроки дифтерии», (1999), «Эпидемический процесс гонококковой инфекции – анализ и современные тенденции», (2012) и др. обзорах о современных менингококковых вакцинах (2016), о дифтерийном бактерионосительстве (2018) и т.п.

В 1972 г. Н. Н. Костюкова защищает докторскую диссертацию на тему «Дифтерийное бактерионосительство (микробиологическое и иммунологическое исследование)».

С 1976 г. по 1992 г. Костюкова Н. Н. – руководитель лаборатории этиологии и эпидемиологии острых менингитов в НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН. Существенным вкладом Натальи Николаевны в отечественную науку явилась расшифровка этиологической структуры острых гнойных менингитов у детей, в том числе новорожденных, в результате чего был значительно расширен спектр возможных возбудителей этих заболеваний в нашей стране. В зоне строительства БАМа ею были проведены широкомасштабные исследования по выявлению менингококковой инфекции. Практическим результатом научно-исследовательской работы явилась блестяще проведенная под ее руководством вакцинация детей, впервые примененная в СССР, для остановки надвигающейся эпидемии менингококковой инфекции в зоне строительства БАМа, а также в Республике Тува.

Профессор Костюкова Н. Н. впервые исследовала степень токсигенности возбудителя дифтерии в условиях массовой иммунизации детского населения и доказала отсутствие изменений этого свойства у *Corynebacterium diphtheriae* под влиянием прививок.

В процессе своей научной деятельности Н. Н. Костюкова разработала и усовершенствовала ряд методов бактериологической и серологической диагностики менингококковой и дифтерийной инфекций, в том числе по выявлению бактерионосителей. Большинство этих методов утверждено в виде «Инструкций», «Методических указаний», включено в руководства по медицинской микробиологии и внедрено в практику бактериологических лабораторий.

В настоящее время Н. Н. Костюкова – ведущий научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России. Ей принадлежат свыше 250 научных работ, в том числе 2 монографии.

Профессор Костюкова Н. Н. много сил и внимания уделяет воспитанию научных кадров, делает из них настоящих микробиологов и эпидемиологов. Под её руководством защищена одна докторская и 19 кандидатских диссертаций. Её лекции, доклады всегда отличаются четкостью мысли, глубоким содержанием и артистизмом. Подготовка кадров – одна из важнейших сторон многогранной деятельности профессора.

Anniversary

В последние годы Н. Н. Костюкова обобщила свой большой научный и практический опыт в многотомном руководстве для врачей «Медицинская микробиология» в качестве соредатора и автора многих глав (Москва, изд-во «Бином», Книга II т. – 2010 г., 2013 г., Книга III том 1 – 2013 г.) В настоящее время она трудится над разработкой программ для обучения аспирантов и материалов для аккредитации молодых врачей и ординаторов.

В трудные 90-е годы XX в. Н. Н. Костюкова была Главным учёным секретарём Всероссийского научного общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. В знак признания заслуг в области профилактической медицины за значительный вклад в деятельность Общества Н. Н. Костюкова отмечена Дипломом Почетного члена ВНПОЭМП.

В 1983 г. награждена медалью «Ветеран труда», в 1986 г. получает медаль «За строительство Байкало-Амурской магистрали», в 1997 г. – медаль «В память 850-летия Москвы», а в 2015 г. – медаль «За заслуги перед отечественным здравоохранением», имеет значок «Отличник здравоохранения». В 2003 г. ей присвоено почетное звание Заслуженного деятеля науки России.

Широкий кругозор и высокая эрудиция в сочетании с огромной творческой активностью и трудолюбием позволили профессору Наталье Николаевне Костюковой и сегодня оставаться признанным лидером и авторитетом в науке не только в нашей стране, но и за её пределами.

**Редакция от души поздравляет Наталью Николаевну
и сердечно желает долгих лет прекрасной,
радостной творческой жизни!**

Богиня, дочь божеств, науки основавших
И приращенье их тебе в наследство давших,
Ты шествуешь по их божественным стопам,
Распростираючи щедроты светлость нам.
Мы, признаваясь, что едва того достойны,

Михаил Ломоносов.





**Светлой памяти
Мефодьева Владимира Васильевича!**

20.05.2020 г. на 82-м году жизни скончался Мефодьев Владимир Васильевич, д. м. н., профессор по специальности «эпидемиология», профессор кафедры гигиены, экологии и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет».

Мефодьев В. В. – широко известный в стране ученый-эпидемиолог, родился 29.07.1938 г. В 1961 г. окончил санитарно-гигиенический факультет Омского государственного медицинского института им. М. И. Калинина и аспирантуру при Филиале Омского НИИ природноочаговых инфекций в г. Тюмени. В 1966 г. защитил кандидатскую, в 1984 г. – докторскую диссертацию. В 1995 г. ему было присвоено звание профессора.

В 1961–1996 гг. работал в Тюменском НИИ краевой инфекционной патологии в должностях младшего, старшего научного сотрудника, заведующего лабораторией, заместителя директора по научной работе.

С 1996 г. трудился в Тюменской государственной медицинской академии на кафедре микробиологии; в 2000 г., совместно с д. м. н. Устюжаниным Ю. В., организовал кафедру медико-профилактического дела на ФПК и ППС. С августа 2014 г., после реорганизации кафедры медико-профилактического дела, В. В. Мефодьев – профессор кафедры гигиены, экологии и эпидемиологии.

Мефодьев В. В. – крупный российский ученый, хорошо известен стране как выдающийся эпидемиолог, успешно сочетающий научную и практическую работу на благо Родины и народа, блестящий педагог высшей школы. Подготовил 6 докторов и 15 кандидатов медицинских и биологических наук. Является автором 8 патентов и 5 зарегистрированных программ для ЭВМ. Имеет более 400 печатных работ, из них 48 – в центральных и 5 – в зарубежных журналах, 10 монографий. Научная биография опубликована в интернет-энциклопедии «Выдающиеся ученые России» (2010).

Основатель научной школы «Оптимизация эпидемиологического надзора и контроля инфекционно-инвазионной патологии» (сертификат № 00311, 2010 г.). Созданная им научная школа широко известна специалистам и свидетельствует о незаурядном уме и таланте Владимира Васильевича как крупнейшего ученого. Итог исследований научной школы В. В. Мефодьева – разработка закономерностей эпидемических процессов кишечных антропонозных и природноочаговых инфекций в ассоциации с краевой патологией – описторхозом; оптимизация эпидемиологического надзора и контроля инфекционно-инвазионной патологии.

Мефодьев В. В. – заслуженный деятель науки и образования, академик РАЕ. Врач высшей категории. Владимир Васильевич постоянно вел совместную работу с учреждениями Роспотребнадзора Урала и Сибири. Он награжден знаком «Отличник здравоохранения» (1975 г.), Благодарностью Президента РФ В. В. Путина (2014 г.). В 2018 г. ему было присвоено звание «Почетный профессор» Тюменского государственного медицинского университета.

**Светлая память о Мефодьеве Владимире Васильевиче
навсегда останется в наших сердцах.**



**Шагинян
Игорь Андроникович**

27 мая на 75-м году жизни после тяжелой продолжительной болезни ушел из жизни главный научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций, д.м.н. Игорь Андроникович Шагинян.

И. А. Шагинян родился 19 апреля 1946 г. В 1971 г. окончил санитарно-гигиенический факультет Первого Московского медицинского института им. И. М. Сеченова. С 1971 г. по 1975 г. по распределению работал старшим лаборантом в НИИ ЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН. В 1974 г. И. А. Шагинян защитил кандидатскую диссертацию, в которой были раскрыты установленные им основные механизмы формирования лекарственно-устойчивых стафилококков в гнойно-хирургических стационарах.

В 1980–1982 гг. впервые в СССР совместно с Ю. В. Вертиевым участвовал в разработке гомогенного препарата холерного токсина, положившей начало исследованиям молекулярных механизмов патогенности холерных вибрионов. Благодаря этому была получена гипериммунная антитоксическая сыворотка, на основе которой были разработаны сероиммунологические методы выявления «эпидемически» значимых холерных вибрионов, циркулировавших в ряде регионов СССР. В 1982 г. И. А. Шагинымом с соавторами впервые были клонированы гены холерного токсина *V. cholera biotype eltor*.

В 1985–2000 гг. И. А. Шагинян разрабатывал новое фундаментальное направление – исследование геномного полиморфизма возбудителей инфекционных заболеваний. Игорь Андроникович является основоположником данного направления в нашей стране. В 1995 г. им была успешно защищена докторская диссертация на тему «Геномный полиморфизм в эпидемиологическом анализе бактериальных инфекций».

Статьи И. А. Шагиняна «Роль и место молекулярно-генетических методов в эпидемиологическом анализе внутрибольничных инфекций» (2000) и «Тенденции развития эпидемиологии в XXI веке» (2005) были одними из наиболее значимых для развития современной эпидемиологии.

В 2000–2019 гг. в лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций, возглавляемой И. А. Шагинымом, был разработан алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции легких, который дает возможность выявить возбудитель, обнаруживать «эпидемически» значимые штаммы, выявлять молекулярные механизмы изменчивости возбудителей хронической инфекции легких.

И. А. Шагинян был членом Ученого совета ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», заместителем председателя проблемной комиссии Научного совета «Медицинская микробиология и молекулярная биология микроорганизмов», заместителем председателя Диссертационного совета по эпидемиологии.

Игорь Андроникович – автор более 285 научных работ, опубликованных в отечественных и зарубежных изданиях, 6 авторских свидетельств на изобретения, 2 методических указаний (МУ 2.3.2.1830-04 и МУ 2.3.21935-04), глав в монографиях «Муковисцидоз» и «Респираторная медицина».

Под руководством И. А. Шагиняна защищены 2 докторские и 3 кандидатские диссертации.

И. А. Шагинян в разное время был членом редколлегий журналов «Эпидемиология и инфекционные болезни», «Бюллетень оренбургского УРО РАН», «Эпидемиология и Вакцинопрофилактика».

И. А. Шагинян навсегда останется в наших сердцах как учитель, коллега, друг и мудрый советчик.

Помним, чтим, скорбим.

Эпидемиология Вакцинопрофилактика

- ООО «Нумиком» доводит до сведения подписчиков, что для своевременного получения вами журнала «Эпидемиология и Вакцинопрофилактика» в 2020 году необходимо оплатить квитанцию, приведенную ниже, и прислать в редакцию по электронной почте (epidemvac@yandex.ru) скан оплаченной квитанции, ФИО (полностью) и полный почтовый адрес получателя.
- Если подписчик – юридическое лицо, необходимо сообщить в редакцию по электронной почте полные реквизиты для выставления счета по безналичной оплате подписки на журнал на 2020 год. После оплаты счета прислать по электронной почте скан документа, подтверждающего оплату.

Доставка журналов включена в стоимость подписки.

Стоимость подписки на 2020 год через редакцию с учетом почтовых расходов и НДС: одного экземпляра – 550 рублей, на полугодие – 1650 рублей, на год – 3300 рублей.

Извещение	ООО «Нумиком» (наименование получателя платежа) 7702402120 (ИНН получателя платежа) № 40702 810 1026 8000 1869 (номер счета получателя платежа) в АО "АЛЬФА-БАНК" кор. счет 30101 810 2000 0000 0593 (наименование банка и банковские реквизиты) БИК 044525593 оплата годовой подписки на журнал «Эпидемиология и вакцинопрофилактика» (6 номеров) (наименование платежа) Дата: _____ Сумма: _____ руб. ____ коп. (прописью) Плательщик (подпись) _____
	Кассир
Квитанция	ООО «Нумиком» (наименование получателя платежа) 7702402120 (ИНН получателя платежа) № 40702 810 1026 8000 1869 (номер счета получателя платежа) в АО "АЛЬФА-БАНК" кор. счет 30101 810 2000 0000 0593 (наименование банка и банковские реквизиты) БИК 044525593 оплата годовой подписки на журнал «Эпидемиология и вакцинопрофилактика» (6 номеров) (наименование платежа) Дата: _____ Сумма: _____ руб. ____ коп. (прописью) Плательщик (подпись) _____

Информация о плательщике:

(ФИО, адрес доставки)

(ИНН налогоплательщика)

№

(номер лицевого счета (код) плательщика)

Информация о плательщике:

(ФИО, адрес доставки)

(ИНН налогоплательщика)

№

(номер лицевого счета (код) плательщика)

Сделайте шаг к защите от пневмококковой инфекции



Единственная пневмококковая конъюгированная вакцина для детей от 2 месяцев и взрослых всех возрастов*

*Краткая ИНСТРУКЦИЯ по применению лекарственного препарата ПРЕВЕНАР® 13

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА: суспензия для внутримышечного введения. Вакцина Превенар® 13 представляет собой капсулярные полисахариды 13 серотипов пневмококка: 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F и 23F, индивидуально конъюгированные с дифтерийным белком CRM₁₉₇ и адсорбированные на алюминии фосфате.

ОПИСАНИЕ
Гомогенная суспензия белого цвета.

ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

— профилактика пневмококковых инфекций, включая инвазивные (в том числе менингит, бактериемию, сепсис, тяжелые пневмонии) и неинвазивные (внебольничные пневмонии и средние отиты) формы заболеваний, вызываемых *Streptococcus pneumoniae* серотипов 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F и 23F с 2-х месяцев жизни и далее без ограничения по возрасту;

— в рамках национального календаря профилактических прививок;

— у лиц групп повышенного риска развития пневмококковой инфекции.

Вакцинация проводится в рамках национального календаря профилактических прививок согласно утвержденным срокам, а также лицам групп риска по развитию пневмококковой инфекции: с иммунодефицитными состояниями, в т.ч. ВИЧ-инфекцией, онкологическими заболеваниями, получающим иммуносупрессивную терапию; с анатомической/функциональной аспленией; с установленным кохлеарным имплантом или планирующиеся на эту операцию; пациентам с подтеканием спинномозговой жидкости; с хроническими заболеваниями легких, сердечно-сосудистой системы, печени, почек и сахарным диабетом; больным бронхиальной астмой; недоношенным детям; лицам, находящимся в организованных коллективах (детские дома, интернаты, армейские коллективы); реконвалесцентам острого среднего отита, менингита, пневмонии; длительно и часто болеющим детям; пациентам, инфицированным микобактерией туберкулеза; всем лицам старше 50 лет; табакокурящим.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

— Повышенная чувствительность на предшествующее введение Превенар® 13 или Превенар® (в том числе, анафилактический шок, тяжелые генерализованные аллергические реакции);

— повышенная чувствительность к дифтерийному анатоксину и/или вспомогательным веществам;

— острые инфекционные или неинфекционные заболевания, обострения хронических заболеваний. Вакцинацию проводят после выздоровления или в период ремиссии.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗЫ

Способ введения

Вакцину вводят в разовой дозе 0,5 мл внутримышечно. Детям первых лет жизни прививки проводят в верхне-наружную поверхность средней трети бедра, лицам старше 2-х лет — в дельтовидную мышцу плеча.

Перед применением шприц с вакциной Превенар® 13 необходимо хорошо встряхнуть до получения гомогенной суспензии. Не использовать, если при осмотре содержимого шприца выявляются инородные частицы, или содержимое выглядит иначе, чем в разделе «Описание» настоящей инструкции.

Не вводить Превенар® 13 внутривенно и внутримышечно в ягодичную область!

Если начата вакцинация Превенар® 13, рекомендуется завершить ее также вакциной Превенар® 13. При вынужденном увеличении интервала между инъекциями любого из приведенных выше курсов вакцинации введение дополнительных доз Превенар® 13 не требуется.

Схема вакцинации

Возраст начала вакцинации	Схема вакцинации	Интервалы и дозировка
2-6 мес	3+1 или 2+1	Индивидуальная иммунизация: 3 дозы с интервалом не менее 4 нед между введениями. Первую дозу можно вводить с 2-х мес. Ревакцинация однократно в 11-15 мес. Массовая иммунизация детей: 2 дозы с интервалом не менее 8 нед между введениями. Ревакцинация однократно в 11-15 мес.
7-11 мес	2+1	2 дозы с интервалом не менее 4 нед между введениями. Ревакцинация однократно на втором году жизни
12-23 мес	1+1	2 дозы с интервалом не менее 8 нед между введениями
2 года и старше	1	Однократно

Дети, ранее вакцинированные Превенар®

Вакцинация против пневмококковой инфекции, начатая 7-валентной вакциной Превенар®, может быть продолжена Превенар® 13 на любом этапе схемы иммунизации.

Лица в возрасте 18 лет и старше

Превенар® 13 вводится однократно. Необходимость ревакцинации Превенар® 13 не установлена. Решение об интервале между введением вакцины Превенар® 13 и ППБ23 следует принимать в соответствии с официальными методическими рекомендациями.

Особые группы пациентов

У пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток рекомендуется серия иммунизации, состоящая из 4 доз препарата Превенар® 13 по 0,5 мл. Первая серия иммунизации состоит из введения трех доз препарата: первая доза вводится с третьего по шестой месяц после трансплантации. Интервал между введениями должен составлять 1 месяц. Ревакцинирующую дозу рекомендуется вводить через 5 месяцев после введения третьей дозы. Недоношенным детям рекомендуется четырехкратная вакцинация. Первая серия иммунизации состоит из 3-х доз. Первую дозу следует вводить в возрасте 2 месяцев независимо от массы тела ребенка, последующие дозы — с интервалом 1 месяц. Введение четвертой (буسترной) дозы рекомендуется в возрасте 12-15 месяцев.

Пожилые пациенты

Иммуногенность и безопасность вакцины Превенар® 13 подтверждены для пожилых пациентов.

Условия хранения и транспортирования

При температуре от 2 до 8° С. Не замораживать. Хранить в недоступном для детей месте. Транспортировать при температуре от 2° С — 25° С. Не замораживать. Допускается транспортирование при температуре выше 2-8° С не более пяти дней.

СРОК ГОДНОСТИ

3 года. Не использовать после истечения срока годности, указанного на упаковке.

ПРЕДПРИЯТИЕ-ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

1. Пфайзер Айрланд Фармасьютикалс, Ирландия Грейндж Капел Бизнес-парк, Клондалкин, Дублин 22, Ирландия.
2. ООО «НПО Петровакс Фарм», Российская Федерация 142143, Московская область, г. Подольск, с. Покров, ул. Сосновая, д. 1

УПАКОВКА:

000 «НПО Петровакс Фарм», Российская Федерация, 142143, Московская область, г. Подольск, с. Покров, ул. Сосновая, д. 1.

ПРЕТЕНЗИИ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ НАПРАВЛЯТЬ ПО АДРЕСУ:

1. 000 «Пфайзер Инновации», 123112, Москва, Пресненская наб., д. 10, БЦ «Башня на Набережной» (Блок С). Телефон: (495) 287-5000, факс: (495) 287-5300.
2. 000 «НПО Петровакс Фарм», Российская Федерация, 142143, Московская область, г. Подольск, с. Покров, ул. Сосновая, д. 1. Тел./факс: (495) 926-2107, e-mail: info@petrovax.ru
3. Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения (Росздравнадзор): 109074, Москва, Славянская пл., д. 4, стр. 1. Тел.: (495) 698-4538; (499) 578-0230.



PP-PNA-RUS-0311 Июнь 2020
На правах рекламы

ООО «Пфайзер Инновации», Россия, 123112, Москва, Пресненская наб., д. 10, БЦ «Башня на Набережной» (Блок С). Тел.: +7 (495) 287 50 00. Факс: +7 (495) 287 53 00.

