

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

январь–март

2017, том 7

№ 1

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

Главный редактор

Тотоян Арег А. д.м.н., профессор, академик РАН, директор Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, зав. лабораторией молекулярной иммунологии, Санкт-Петербург, Россия

Заместитель главного редактора

Макроусов И.В. д.б.н., зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Редакционная коллегия

- Апт А.С.** д.б.н., профессор, зав. лабораторией иммуногенетики Центрального НИИ туберкулеза, Москва, Россия
- Барбеито Л.** д.м.н., профессор, директор Института Пастера, Монтевидео, Уругвай
- Брей П.** д.б.н., профессор, директор Института Пастера в Лаосе, зав. лабораторией медицинской энтомологии и биологии переносчиков болезней, Вьентьян, Лаос
- Гинцбург А.Л.** д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия
- Дозо Ч.** д.б.н., профессор, директор Национального научно-исследовательского центра — Институт имени Арманда Фраппьера, Квебек, Канада
- Лаврентьева И.Н.** д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Лобзин Ю.В.** д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия
- Лоузир Э.** профессор, директор Института Пастера Туниса, Тунис
- Львов Д.К.** д.м.н., профессор, академик РАН, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия
- Мануссакис М.** директор Института Пастера Греции, Афины, Греция
- Медуницын Н.В.** д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия
- Михайлов М.И.** д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова; зав. кафедрой микробиологии и вирусологии Российского университета дружбы народов, Москва, Россия
- Найденски Х.** д.м.н., профессор, директор Института микробиологии им. Стефана Ангеловфа, зав. отделом инфекционной микробиологии, София, Болгария
- Онищенко Г.Г.** д.м.н., профессор, академик РАН, помощник Председателя Правительства РФ, Москва, Россия
- Покровский В.В.** д.м.н., профессор, академик РАН, руководитель Федерального НМЦ по профилактике и борьбе со СПИДом, Москва, Россия
- Сантони А.** зам. директора по научной работе Института Пастера в Риме, профессор иммунологии и иммунопатологии отдела молекулярной медицины Университета Сапиенца в Риме, Рим, Италия
- Симбирцев А.С.** д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия
- Тотоян Артем А.** д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
- Фрейдлин И.С.** д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
- Хаитов Р.М.** д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия
- Черешнев В.А.** д.м.н., профессор, академик РАН, директор Института иммунологии и физиологии, Екатеринбург, Россия
- Шпигель А.** д.м.н., профессор, директор Института Пастера, Дакар, Сенегал

Редакционный совет

- Алешкин В.А.** д.б.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, директор Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия
- Бухарин О.В.** д.м.н., профессор, академик РАН, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург, Россия
- Вишневский Б.И.** д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия
- Долгушин И.И.** д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, ректор Южно-Уральского государственного медицинского университета, Челябинск, Россия
- Зверев В.В.** д.б.н., профессор, академик РАН, директор НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
- Зуева Л.П.** д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия
- Кафтырева Л.А.** д.м.н., профессор, зав. лабораторией кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Кашкин К.П.** д.м.н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой иммунологии Российской медицинской академии последипломного образования МЗ РФ, Москва, Россия
- Кубарь О.И.** д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Малеев В.В.** д.м.н., профессор, академик РАН, зам. директора по научной и клинической работе Центрального НИИ эпидемиологии, зав. отделом инфекционной патологии, Москва, Россия
- Нарвская О.В.** д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
- Савичева А.М.** д.м.н., профессор, зав. лабораторией микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия
- Сельков С.А.** д.м.н., профессор, зав. лабораторией иммунологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия
- Тец В.В.** д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия
- Харит С.М.** д.м.н., профессор, руководитель отдела профилактики инфекционных заболеваний ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия
- Чекнев С.Б.** д.м.н., зам. директора по научной работе ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, зав. лабораторией межклеточных взаимодействий, Москва, Россия
- Шкарин В.В.** д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент Нижегородской государственной медицинской академии, зав. кафедрой эпидемиологии, Нижний Новгород, Россия

Ответственный секретарь: Лаврентьева И.Н., д.м.н. (Санкт-Петербург)

Редактор перевода: Семенов А.В., к.б.н. (Санкт-Петербург)

Выпускающий редактор: Мурадян А.Я., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Учредители

Северо-Западное отделение медицинских наук
Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
Санкт-Петербургское региональное отделение Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов

Журнал зарегистрирован Управлением Федеральной службы по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций по Санкт-Петербургу и Ленинградской области
Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78–00578 от 26 апреля 2010 г.
Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78–00910 от 24 июня 2011 г.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77–64788 от 02 февраля 2016 г.

Электронная версия журнала: www.iimmun.ru и www.elibrary.ru

С 2012 года журнал «Инфекция и иммунитет» входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

С 2014 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в международную базу Ulrich's Periodicals Directory

С 2016 года включен в базу данных Russian Science Citation Index (RSCI), интегрированную с платформой Web of Science

С 2017 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в международную базу Scopus

Адрес редакции:
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.

Издательство НИИЭМ имени Пастера
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел./факс: (812) 232-07-42.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Типография ООО «ИПК „Береста”»
196006, Санкт-Петербург,
ул. Коли Томчака, 28.
Тел./факс: (812) 388-90-00.

Подписано в печать 24.03.2017 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 12,5.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1047

© Инфекция и иммунитет
© Северо-Западное отделение медицинских наук, 2017
© НИИЭМ имени Пастера, 2017
© СПб РО РААКИ, 2017

Russian Journal of Infection and Immunity (Infektsiya i immunitet)

January–March

2017, volume 7

No. 1

The journal is published with the assistance of the Branch of All-Russian Scientific and Practical Society of epidemiologists, microbiologists and parasitologists for St. Petersburg and Leningrad region

Editor-in-chief

Areg A. Totolian PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, St. Petersburg Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, Director, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg, Russian Federation

Deputy editor-in-chief

Igor V. Mokrousov PhD, MD (Biology), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg, Russian Federation

Members of editorial board

- Alexander S. Apt** PhD, MD (Biology), Professor, Central Research Institute of Tuberculosis, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Moscow, Russian Federation
- Luis Barbeito** PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Montevideo, Director, Montevideo, Uruguay
- Paul Brey** PhD, MD (Biology), Professor, Institute Pasteur du Laos, Director; Laboratory of Medical Entomology and Biology of Disease Vectors, Head, Vientiane, Laos
- Charles M. Dozois** PhD, MD (Biology), Professor, INRS — Institute Armand Frappier, Director, Quebec, Canada
- Alexander L. Gintsburg** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation
- Irina N. Lavrentieva** PhD, MD (Medicine), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg, Russian Federation
- Yuri V. Lobzin** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Director, St. Petersburg, Russian Federation
- Hechmi Louzir** Professor, Institute Pasteur de Tunis, Director, Tunis, Tunisia
- Dmitry K. Lvov** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, M.F. Gamaleya Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation
- Menelaos N. Manoussakis** Hellenic Pasteur Institute, Director, Athens, Greece
- Nikolai V. Medunitsyn** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Scientific Center for Expertise of Medical Products, Moscow, Russian Federation
- Michael I. Michailov** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Head of the Laboratory of Viral Hepatitis; Peoples' Friendship University of Russia, Head of the Department of Microbiology and Virology, Moscow, Russian Federation
- Hristo Najdenski** PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Stephan Angeloff, Director; Department of Infectious Microbiology, Head, Sofia, Bulgaria
- Gennadiy G. Onishchenko** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Assistant to the Chairman of the Government of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation
- Vadim V. Pokrovskiy** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Director, Head of the Federal AIDS Center, Moscow, Russian Federation
- Angela Santoni** PhD, Professor, Institute Pasteur-Fondation Cenci Bolognetti, Scientific Director; Full Professor of Immunology and Immunopathology, Department of Molecular Medicine, Sapienza University of Rome, Rome, Italy
- Andrei S. Simbirtsev** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Director, St. Petersburg, Russian Federation
- Artem A. Totolian** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Experimental Medicine, Department of Molecular Microbiology, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
- Irina S. Freidlin** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, Institute of Experimental Medicine, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
- Rahim M. Khaitov** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology, Scientific Adviser, Moscow, Russian Federation
- Valery A. Chereshevnev** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology and Physiology, Director, Yekaterinburg, Russian Federation
- Andre Spiegel** PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Dakar, Director, Dakar, Senegal

Members of editorial council

| | |
|------------------------------|---|
| Vladimir A. Aleshkin | PhD, MD (Biology), Professor, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation |
| Oleg V. Bukharin | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Research Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Director, Orenburg, Russian Federation |
| Boris I. Vishnevsky | PhD, MD (Medicine), Professor, Research Institute of Phthisiopulmonology, Head Researcher, Department of Laboratory Diagnostic, St. Petersburg, Russian Federation |
| Ilija I. Dolgushin | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Chelyabinsk State Medical Academy, Rector, Moscow, Russian Federation |
| Vitaly V. Zverev | PhD, MD (Biology), Professor, RAS Full Member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation, Director; I.M. Sechenov State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Moscow, Russian Federation |
| Ludmila P. Zueva | PhD, MD (Medicine), Professor, I.I. Mechnikov North-West State Medical University, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, St. Petersburg, Russian Federation |
| Lydia A. Kaftyreva | PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Intestinal Infections, St. Petersburg, Russian Federation |
| Kirill P. Kashkin | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Russian Academy of Postgraduate Medical Education, Head of the Department of Immunology, Moscow, Russian Federation |
| Olga I. Kubar | PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Leading Researcher, St. Petersburg, Russian Federation |
| Victor V. Maleev | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Deputy Director on Science, Moscow, Russian Federation |
| Olga V. Narvskaya | PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg, Leading Researcher, Russian Federation |
| Alevtina M. Savicheva | PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation |
| Sergei A. Selkov | PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Immunology, St. Petersburg, Russian Federation |
| Viktor V. Tets | PhD, MD (Medicine), Professor, Pavlov State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, St. Petersburg, Russian Federation |
| Susanna M. Kharit | PhD, MD (Medicine), Professor, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Head of the Prevention Department of Infectious Diseases, St. Petersburg, Russian Federation |
| Galina Ya. Tseneva | PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Bacterial Respiratory Infections, St. Petersburg, Russian Federation |
| Sergei B. Cheknev | PhD, MD (Medicine), N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Deputy Director on Science, Head of the Laboratory of Cellular Interactions, Moscow, Russian Federation |
| Vyacheslav V. Shkarin | PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, State Medical Academy, President, Head of the Department of Epidemiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation |

Assistant editor: Irina N. Lavrentieva (St. Petersburg)

Translation editor: Alexander V. Semenov (St. Petersburg)

Copy editor: Aram Ya. Muradyan (St. Petersburg)

Founders

North-West Regional Branch of Medical Sciences

Saint Petersburg Pasteur Institute

Russian Association of Allergologists and Clinical Immunologists, St. Petersburg Regional Branch (SPb RAACI)

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass media in Saint Petersburg and Leningrad region

Certificate of registration PI no. TU 78–00578 from April, 26, 2010

Certificate of registration PI no. TU 78–00910 from June, 24, 2011

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media

Certificate of registration PI no. FS 77–64788 from February, 02, 2016

Electronic version: www.iimmun.ru and www.elibrary.ru

Since 2012, the Infection and Immunity journal is admitted to the Index of leading peer-reviewed scientific journals intended for publication of key research results of MD Theses, as recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education and Science

Since 2014 the Infection and Immunity journal is included into international Ulrich's Periodicals Directory database

Since 2016 included in Russian Science Citation Index (RSCI) database, integrated in Web of Science

Since 2017 the Russian Journal of Infection and Immunity is included into international Scopus database

Editorial Office

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.

Publishing House of St. Petersburg Pasteur Institute

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.

Phone/fax: (812) 232-07-42.

E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Produced at the Beresta Printing House

196084, Russian Federation, St. Petersburg,

Koli Tomchaka str., 28.

Phone/fax: (812) 388-90-00.

Passed for printing 24.03.2017. Print format 60 x 90 1/8.

Offset printing. Printed sheets 12,5.

Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies).

© Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet

© North-West Regional Branch of Medical Sciences, 2017

© St. Petersburg Pasteur Institute, 2017

© SPb RAACI, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Антипова А.Ю., Лаврентьева И.Н.

ВИРУСЫ СЕМЕЙСТВА PARVOVIRIDAE: МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕПРОДУКЦИИ И МЕДИЦИНСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ 7

Кормилицына А.В., Калинина Н.М.

РОЛЬ ПРОВΟΣПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ИНИЦИАЦИИ И ТЕЧЕНИИ УГРЕВОЙ БОЛЕЗНИ: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД..... 21

Оригинальные статьи

Коншина О.С., Соминина А.А., Смородинцева Е.А., Столяров К.А., Никоноров И.Ю.

РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОЛЕТНЕГО ИЗУЧЕНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К ВИРУСАМ ГРИППА А(Н1N1)pdm09, А(Н3N2) И В У ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ РОССИИ 27

Вязовая А.А., Ветров В.В., Лялина Л.В., Мокроусов И.В., Соловьева Н.С., Журавлев В.Ю., Вишневецкий Б.И., Нарвская О.В.

ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS (ПО МАТЕРИАЛАМ 15-ЛЕТНЕГО НАБЛЮДЕНИЯ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ)..... 34

Сенюта Н.Б., Игнатова А.В., Ломая М.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Душенькина Т.Е., Гугунов Д.В., Мудунов А.М., Гурцевич В.Э.

ВИРУС ЭПШТЕЙНА–БАРР У БОЛЬНЫХ РАКОМ НОСОГЛОТКИ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ В ДВУХ ГЕОГРАФИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ РОССИИ 41

Савченко А.А., Гвоздев И.И., Борисов А.Г., Черданцев Д.В., Первова О.В., Кудрявцев И.В., Мошев А.В.

ОСОБЕННОСТИ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ И СОСТОЯНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА..... 51

Шипилов М.В., Тутельян А.В.

МЕТААНАЛИЗ ИССЛЕДОВАНИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ГРИППОМ А(Н1N1)pdm09 61

Мамаева Т.А., Железнова Н.В., Наумова М.А., Чехляева Т.С., Воробейчиков Е.В., Бен Маму М., Алешкин В.А.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ МЕТОДОМ ИФА ПРИ ЛАБОРАТОРНОМ ПОДТВЕРЖДЕНИИ КОРИ И КРАСНУХИ НА ЭТАПЕ ЭЛИМИНАЦИИ ЭТИХ ИНФЕКЦИЙ 69

Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербакова С.А., Буаро М.И., Тотолян Арег А.

ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ ИММУНИТЕТА К ВИРУСУ КОРИ В ОТДЕЛЬНЫХ ГРУППАХ НАСЕЛЕНИЯ ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ В РАМКАХ ГЛОБАЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ЭЛИМИНАЦИИ КОРИ. СООБЩЕНИЕ 2..... 79

Краткие сообщения

Куртасова Л.М., Шакина Н.А., Иккес Л.А.

ИЗМЕНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ К ИНТЕРФЕРОНУ- α 2 *IN VITRO* У ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ 85

Костюченко М.В., Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Санникова И.В., Дейнека Д.А., Голубь О.Г.

ПЕРСПЕКТИВА ОЦЕНКИ АНТИГЕНРЕАКТИВНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ *IN VITRO* ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО БРУЦЕЛЛЕЗА 91

Правила для авторов 97

Авторский указатель 100

Предметный указатель 100

CONTENTS

Reviews

Antipova A.Yu., Lavrentieva I.N.

VIRUSES OF THE PARVOVIRIDAE FAMILY: MOLECULAR GENETICAL ASPECTS OF REPRODUCTION AND MEDICAL IMPORTANCE 7

Kormilitcyra A.V., Kalinina N.M.

THE ROLE OF INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE INITIATION AND COURSE OF ACNE: A MODERN VIEW 21

Original articles

Konshina O.S., Somnina A.A., Smorodintseva E.A., Stolyarov K.A., Nikonorov I.Yu.

POPULATION IMMUNITY TO INFLUENZA VIRUS A(H1N1)pdm09, A(H3N2) AND B IN THE ADULT POPULATION OF THE RUSSIAN FEDERATION LONG-TERM RESEARCH RESULTS 27

Vyazovaya A.A., Vetrov V.V., Lyalina L.V., Mokrousov I.V., Solovieva N.S., Zhuravlev V.Yu., Vishnevskiy B.I., Narvskaya O.V.

CHARACTERIZATION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS STRAINS (A 15-YEAR SURVEY IN LENINGRAD REGION, RUSSIA) 34

Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Goncharova E.V., Scherback L.N., Dushenkina T.E., Gugunov D.V., Mudunov A.M., Gurtsevitch V.E.

EPSTEIN-BARR VIRUS IN THE POPULATION OF TWO GEOGRAPHICALLY DIFFERENT REGIONS OF RUSSIA 41

Savchenko A.A., Gvozdev I.I., Borisov A.G., Cherdancev D.V., Pervova O.V., Kudryavcev I.V., Moshev A.V.

PHAGOCYTTIC ACTIVITY AND BLOOD NEUTROPHILS RESPIRATORY BURST STATE FEATURES AMONGST WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS PATIENTS IN THE POSTOPERATIVE PERIOD DYNAMICS 51

Shipilov M.V., Tutelian A.V.

META-ANALYSIS OF THE RESEARCH OF IL-6 IN PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH INFLUENZA A(H1N1)pdm09 61

Mamaeva T.A., Zheleznova N.V., Naumova M.A., Chekhlyaeva T.S., Vorobeychikov E.V., Ben Mamou M., Aleshkin V.A.

IMPROVEMENT OF THE QUALITY CONTROL OF ELISA TESTING FOR THE LABORATORY CONFIRMATION OF MEASLES AND RUBELLA INFECTIONS AT THE STAGE OF THE MEASLES/RUBELLA ELIMINATION PROGRAM 69

Popova A.Yu., Bichurina M.A., Lavrentyeva I.N., Zheleznova N.V., Antipova A.Yu., Shcherbakova S.A., Boiro M.Y., Totolian Areg A.

MEASLES VIRUS IMMUNITY LEVEL STUDY IN PARTICULAR POPULATION GROUPS OF THE REPUBLIC OF GUINEA WITHIN THE FRAMEWORK OF GLOBAL MEASLES ELIMINATION PROGRAM. REPORT 2 79

Short communications

Kurtasova L.M., Shakina N.A., Ikkes L.A.

THE PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES SUSCEPTIBILITY TO INTERFERON- α 2 *IN VITRO* CHANGE AMONGST CHILDREN WITH INFECTIOUS MONONUCLEOSIS 85

Kostyuchenko M.V., Ponomarenko D.G., Rakitina E.L., Logvinenko O.V., Sannikova I.V., Dejneka D.A., Golub O.G.

PERSPECTIVE OF *IN VITRO* LYMPHOCYTES ANTIGENICITY EVALUATION FOR THE DIAGNOSTICS OF ACUTE BRUCELLOSIS 91

Instructions to Authors 97

Author index 100

Subject index 100

ВИРУСЫ СЕМЕЙСТВА *PARVOVIRIDAE*: МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕПРОДУКЦИИ И МЕДИЦИНСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

А.Ю. Антипова, И.Н. Лаврентьева

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

Резюме. Открытие новых парвовирусов привело к пересмотру таксономической структуры и номенклатуры семейства *Parvoviridae*. Выделяют два подсемейства: *Densovirinae* и *Parvovirinae*. Подсемейство *Densovirinae* включает вирусы членистоногих. Подсемейство *Parvovirinae* объединяет вирусы позвоночных животных и включает в себя восемь родов. В данном обзоре будут рассмотрены парвовирусы, представляющие интерес для практического здравоохранения. Представлены данные о молекулярно-биологических и вирусологических характеристиках вирусов, эпидемиологических и клинических особенностях вызываемых этими вирусами инфекций. Парвовирусы, изучение которых актуально для терапии различных заболеваний человека, относятся к пяти родам: *Vocaparvovirus*, *Dependoparvovirus*, *Erythroparvovirus*, *Protoparvovirus* и *Tetraparvovirus*. Наиболее известным патогенным парвовирусом человека является вирус Primate erythroparvovirus 1, ранее называвшийся Human parvovirus B19, открытый в 1975 г. и относящийся к роду *Erythroparvovirus*. В данном обзоре основное внимание уделено менее известным вирусам данного семейства. В структуре вирусных инфекций нижних дыхательных путей ведущее место занимают бокавирусы человека — Primate bocaparvovirus 1 и Primate bocaparvovirus 2, относящиеся к роду *Vocaparvovirus*. В 2005 г. у человека обнаружен вирус Primate tetraparvovirus 1, который относится к роду *Tetraparvovirus*. Клинически острые формы тетрапарвовирусной инфекции проявляются заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей и пищеварительного тракта. Вирус обладает тератогенным действием. Представители рода *Protoparvovirus* вызывают заболевания пищеварительного тракта. Описаны два вида, патогенные для человека: буфавирус человека (Primate protoparvovirus 1) был обнаружен в 2012 г., тузавирус (Primate protoparvovirus 2, Tusavirus 1) был выделен в 2014 г. Вид Rodent protoparvovirus 1, который объединяет вирусы преимущественно грызунов, имеет особое значение для терапии человека. Вирусы этого вида онкотропны, способны инфицировать широкий спектр раковых клеток человека, обладают выраженными онколитическими свойствами и перспективны для лечения онкологических заболеваний. Вирус человека рода *Dependoparvovirus*, названный аденоассоциированным вирусом (Human adeno-associated viruses), был открыт при изучении препаратов аденовируса в 1965 г. Связь аденоассоциированного вируса человека с патологией человека не установлена, однако вирус обладает способностью встраиваться в определенный локус 19 хромосомы человека и является перспективным кандидатом на роль вектора для лечения генетических заболеваний.

Ключевые слова: *Parvoviridae*, парвовирус, бокавирус, буфавирус, аденоассоциированный вирус, *PARV4*, тузавирус 1.

Адрес для переписки:

Антипова Анастасия Юрьевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИЭМ имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 232-94-11 (служебн.); 8 (921) 346-07-90 (моб.).
E-mail: anti130403@mail.ru

Contacts:

Anastassia Yu. Antipova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 232-94-11 (office); +7 (921) 346-07-90 (mobile).
E-mail: anti130403@mail.ru

Библиографическое описание:

Антипова А.Ю., Лаврентьева И.Н. Вирусы семейства Parvoviridae: молекулярно-генетические аспекты репродукции и медицинская значимость // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 7–20.
doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-7-20

Citation:

Antipova A.Yu., Lavrentieva I.N. Viruses of the Parvoviridae family: molecular genetical aspects of reproduction and medical importance // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 7–20. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-7-20

VIRUSES OF THE PARVOVIRIDAE FAMILY: MOLECULAR GENETICAL ASPECTS OF REPRODUCTION AND MEDICAL IMPORTANCE

Antipova A.Yu., Lavrentieva I.N.

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

Abstract. Discovery of new parvoviruses led to taxonomical structure and the nomenclature of the *Parvoviridae* family re-evaluation. There are two subfamilies: *Densovirinae* and *Parvovirinae*. *Densovirinae* subfamily consists of viruses of arthropoda. The *Parvovirinae* subfamily includes eight genera of vertebrate animals viruses. In this review parvoviruses which are of interest to practical health care will be considered. Data on molecular and biological and virological characteristics of viruses, epidemiological and clinical features of the infections caused by these viruses are submitted. Parvoviruses which are interesting for human health care belong to five genera: *Bocaparvovirus*, *Dependoparvovirus*, *Erythroparvovirus*, *Protoparvovirus* and *Tetraparvovirus*. The most known person pathogenic parvovirus is the Primate erythroparvovirus 1 virus which was earlier called by Human parvovirus B19. It was discovered in 1975. It relates to the *Erythroparvovirus* genus. In this review the main attention is paid to less known viruses of this family. In viral lower respiratory tract infections structure the leading place is taken by Human Bocavirus — Primate bocaparvovirus 1 and Primate bocaparvovirus 2 relating to the *Bocaparvovirus* genus. In 2005, the virus of human, Primate tetraparvovirus 1, was discovered which belongs to the genus *Tetraparvovirus*. Clinically acute form of a tetraparvoviral infection is a top and lower respiratory tract and an alimentary tract disease. The virus possesses teratogenic action. *Protoparvovirus* genus representatives cause an alimentary tract disease also. Two species, pathogenic for the person are described. Buvavirus (Primate protoparvovirus 1) was found in 2012. Tuzavirus (Primate protoparvovirus 2, Tusavirus 1) was highlighted in 2014. Rodent protoparvovirus 1 which consist of rodents viruses is very interesting species for therapy of the human. Viruses of this species are capable to infect a wide range of human cancer cells, have the expressed carcinolytic properties and are perspective for treatment of person with a cancer. The human virus of the *Dependoparvovirus* genus called Human adeno-associated virus was discovered in 1965 in the drugs of an adenovirus. This virus isn't associated with any disease however the virus can be located in a certain locus of the 19th human chromosome and is a perspective candidate like a vector for the treatment of genetic diseases.

Key words: *Parvoviridae*, *parvovirus*, *Human bocavirus*, *Buvavirus*, *Adeno-associated virus*, *Human parvovirus 4*, *Tusavirus 1*.

Семейство *Parvoviridae* (от лат. *parvum* — маленький) не относится к какому-либо порядку [22]. Вирусы этой группы имеют: небольшие размеры (18–26 нм); безоболочечный вирион; икосаэдрический капсид из 60 капсомеров ($T = 1$); высокую устойчивость к факторам окружающей среды. Геном представлен линейной однонитевой несегментированной инфекционной молекулой ДНК (4–6 тыс. нт). На концах геномной последовательности ДНК находятся инвертированные и палиндромные (симметричные самокомплементарные, содержащие GC-пары) последовательности (ITR), самопроизвольно формирующие шпильчатые структуры разной формы: 3'-последовательности образуют уникальные Y- или T-образные симметричные шпильки, а шпильки 5'-конца не являются уникальными и абсолютно симметричными. Геном кодирует неструктурные белки, которые обеспечивают репликацию вируса и обладают цитотоксическим действием, и структурные белки, образующие капсид. Вирионы проникают в клетку путем эндоцитоза, обычно клатрин-зависимого. Репликация вируса происходит в ядре; парвовирусы используют клеточную полимеразу и другие факторы S-фазы клеточного цикла. Способ репликации парвовирусов обозначается как механизм катящейся шпильки. В ходе синтеза ДНК образуются промежуточные репликативные формы,

сначала двусторонние димеры, содержащие два полных генома и две комплементарные нити, которые затем полимеризуются в тетрамерные структуры, из которых вырезается вирионная ДНК [75].

Открытие новых парвовирусов привело к пересмотру таксономической структуры и номенклатуры семейства *Parvoviridae* [22, 61]. Выделяют два подсемейства: *Densovirinae* и *Parvovirinae*. Подсемейство *Densovirinae* (от лат. *densus* — компактный) состоит из пяти родов вирусов членистоногих (далее не рассматривается). Подсемейство *Parvovirinae* объединяет вирусы позвоночных животных, включает в себя восемь родов: *Amdoparvovirus*, *Aveparvovirus*, *Bocaparvovirus*, *Copiparvovirus*, *Dependoparvovirus*, *Erythroparvovirus*, *Protoparvovirus* и *Tetraparvovirus*. Парвовирусы человека относятся к пяти родам: *Bocaparvovirus*, *Dependoparvovirus*, *Erythroparvovirus*, *Protoparvovirus* и *Tetraparvovirus*, которые будут рассмотрены в данном обзоре (табл.).

Наиболее полно изученным является парвовирус человека, относящийся к роду *Erythroparvovirus*. Род *Erythroparvovirus* объединяет вирусы, тропные к клеткам-предшественникам эритроцитов: пять видов эритропарвовирусов приматов и один вид парвовируса человека. Таксономическое положение и название парвовируса человека несколько раз пересматривалось: 1991 г. — «B19»; 1993 г. —

«Erythrovirus»; 2005 г. — «Human parvovirus B19»; с 2013 г. — Primate erythroparvovirus 1 (PV B19, B19V) [21, 22].

Парвовирус человека B19 обладает тератогенным действием и вызывает постнатальную и врожденную инфекции с широким спектром клинических симптомов.

Данные о молекулярно-биологических и вирусологических характеристиках вируса, эпидемиологических и клинических особенностях парвовирусной B19 инфекции освещены в многочисленных работах как зарубежных, так и отечественных авторов [14, 20, 39, 68], и были представлены нами ранее [2, 3].

Род *Voscarparvovirus*

Род *Voscarparvovirus* объединяет вирусы человека и животных.

Вид Бокавирус человека (HBoV), названный по первым слогам родственных видов *Vovin parvovirus* и *Canina minut virus*, был разделен

на два вида на основании молекулярно-генетических данных: Primate bocaparvovirus 1 (геноварианты HBoV1, HBoV3, и Gorilla bocavirus — GboV) и Primate bocaparvovirus 2 (геноварианты HBoV2a, HBoV2b, HBoV2c, и HBoV4). Вирусы HBoV1, HBoV2, HBoV3 и HBoV4 составляют четыре генотипа. HBoV3 и HBoV4 имеют, вероятно, рекомбинантное происхождение [18, 22, 43, 44]. Скорость накопления мутаций HBoV — $8,6 \times 10^{-4}$ замен/сайт/год. Филогенетический анализ может быть выполнен по локусам генов VP1 и VP2 [7].

Строение вириона и особенности репликации вирусов видов *Primate bocaparvovirus 1* и *Primate bocaparvovirus 2*

Молекулярно-биологические характеристики двух видов бокавирусов человека существенно не различаются. Геном (5300 нт) содержит один промотор и три открытые рамки считывания (ORF): ORF1 кодирует неструктурные протеины (NS1-100, NS1-70, NS1-34), ORF2 —

Таблица. Клинические проявления парвовирусных инфекций

Table. Clinical manifestations of parvovirus infection

| Род Genus | Вид Species | Клинические формы Clinical forms |
|--------------------------|--|---|
| <i>Protoparvovirus</i> | Primate protoparvovirus 1 (BuPV, BuV) | Диарея/Diarrhea |
| | Primate protoparvovirus 2 (Tusavirus 1) | Диарея/Diarrhea |
| | Rodent protoparvovirus 1 (RoPV1) | Терапия онкологических заболеваний Cancer therapy |
| <i>Voscarparvovirus</i> | Primate bocaparvovirus 1 (HBoV1) | Заболевания дыхательной системы: бронхолит, пневмония, бронхопневмония, фарингит, ларинготрахеит, респираторный синдром; рвота, диарея; энцефалит Respiratory disease: bronchiolitis, pneumonia, pharyngitis, laryngotracheitis, respiratory syndrome; vomiting, diarrhea; encephalitis |
| | Primate bocaparvovirus 2 (HBoV2) | Заболевания пищеварительной системы: диарея, рвота; заболевания дыхательных путей: пневмония, бронхит, фарингит, ларинготрахеит, респираторный синдром; энцефалит Digestive system diseases: diarrhea, vomiting; respiratory disease: pneumonia, bronchitis, pharyngitis, laryngotracheitis, respiratory syndrome; encephalitis |
| <i>Dependoparvovirus</i> | Adeno-associated dependoparvovirus A, B (AAV, human adeno-associated viruses) | Бессимптомное носительство. Терапия генетических заболеваний Asymptomatic carriage. Therapy of genetic diseases |
| <i>Erythroparvovirus</i> | Human erythroparvovirus 1 (PV B19, B19V, Parvovirus B19) | Инфекционная эритема, артралгия, анемия, апластический криз, гепатит, миокардит, синдром внезапной детской смерти, водянка плода Infectious erythema, arthralgia, anemia, aplastic crisis, hepatitis, myocarditis, sudden infant death syndrome, dropsy of the fetus |
| <i>Tetraparvovirus</i> | Primate tetraparvovirus 1 (PARV4, Human parvovirus 4) | Инфекция верхних и нижних дыхательных путей, пищеварительного тракта, ОРЗ; синдром вирусной инфекции у ВИЧ-положительных; гепатит; энцефалит; водянка плода Respiratory tract and digestive tract infection, acute respiratory diseases; virus infection syndrome in HIV-positive; hepatitis; encephalitis; dropsy of the fetus |

капсидные белки VP1 и VP2, ORF3 — высокофосфорилированный неструктурный протеин NP1 [15, 44, 48]. Были обнаружены два сайта рекомбинации, расположенные выше NS1 и VP1/2 ORF [18, 43]. Терминальные последовательности составляют около 513 нт [7].

Доказана роль протеина NS1 (100 kDa), содержащего ДНК-связывающий домен и домен активации транскрипции, в обеспечении вирусной репликации. Белки NS1-70 и NS1-34 образуются, вероятно, в результате альтернативного сплайсинга [15]. В настоящее время их функция не ясна.

Белок NP1 (26 kDa; 214–219 а.о.) содержит сигнал ядерной локализации (NLS), участвует в репликации, индуцирует остановку клеточного цикла. В клетках *HeLa* митохондриально-опосредованный апоптоз запускается через каспаза 9-зависимый путь [73].

Протеин VP1 (84 kDa) имеет NLS и фосфолипазный домен (PLA2) [75, 87]. VP1U область (129 а.о.) может содержать антителсвязывающие эпитопы. Белок VP2 (65 kDa) высококонсервативный, составляет главный антиген вируса и способен образовывать вирус-подобные частицы, сходные с нативным вирусом. В составе VP2 было определено несколько иммунореактивных эпитопов: общие для всех геновариантов эпитопы P1 и P2; эпитоп P3 общий для HBoV1 и HBoV3; P4 — для HBoV1 и HBoV2 геновариантов [75, 88].

Бокапарвовирусы человека реплицируются автономно, но возможно наличие вирусом-помощников [72]. Главным рецептором для этих вирусов является O-связанная сиаловая кислота. Инфекция клеток — литическая [22].

Клинико-эпидемиологические особенности бокапарвовирусной инфекции, вызванной Primate bocaparvovirus 1 (БПВИ1) и Primate bocaparvovirus 2 (БПВИ2)

Ранее бокавирусы человека не считались патогенными [64]. В настоящее время установлено, что бокапарвовирусы могут занимать одно из ведущих мест в структуре вирусных инфекций нижних дыхательных путей [1, 63].

Наиболее вероятные пути передачи бокапарвовирусных инфекций — это воздушно-капельный и алиментарный пути. При исследовании речной воды из рек Рур и Рейн (Германия) ДНК бокапарвовируса человека была обнаружена в 40% проб. Вирусная нагрузка варьировала от 3×10^1 до 2×10^3 копий ДНК/мл [38].

Различия клинических проявлений разных видов и генотипов бокавирусов заключаются в преобладании кишечной или респираторной симптоматики. Инфекция, вызванная Primate bocaparvovirus 1 генотипа HBoV1 ассоциируется с бронхолитом и пневмонией, в том числе

с острой бронхопневмонией. Госпитализация при HBoV1 моноинфекции, составляет около 7,8 дней [71]. Изоляты генотипа HBoV3 выявляются также у детей с гастроэнтеритом [44]. Primate bocaparvovirus 2 моноинфекция клинически проявляется как гастроэнтерит, бронхопневмония и острая инфекция верхних дыхательных путей или сочетанная форма ОРЗ и гастроэнтерита. Для генотипа HBoV2 отмечены диарея (100%), рвота (42%), лихорадка (41%) и респираторные симптомы (31%). Описаны сопутствующие заболевания, такие как идиопатический легочный гемосидероз и железодефицитная анемия. Госпитализация при HBoV2 моноинфекции составляет, в среднем, 11,3 дня. Патогенность изолятов генотипа HBoV4 для человека обсуждается [52, 83].

Общие клинические симптомы, характерные для обоих видов бокапарвовируса человека — это лихорадка, кашель, выделение мокроты, хрипы, свистящее дыхание, фарингит, ларингит, ринорея (ринит), цианоз, рвота и диарея. Наиболее частыми диагнозами являются бронхит (34%), синусит (31%), фарингит (29%), обострение астмы (26%); острый обструктивный ларинготрахеит и стеноз гортани I–II степени (25,2% случаев), острый ларинготрахеит (9,1%). По литературным данным, 95,7% случаев ОРЗ бокавирусной природы сочетались с обструктивным синдромом. Симптомы гастроэнтерита отмечены в 34,3% случаев [19, 71].

Для детей с бокавирусными моноинфекциями характерна умеренная лимфопения [1]. Госпитализация требуется в 8,5% случаев бокапарвовирусных инфекций [19].

Бокавирусы были выделены у лиц с заболеваниями нервной системы. Так, ДНК Primate bocaparvovirus 1 (генотип HBoV1) и Primate bocaparvovirus 2 (генотип HBoV2) была обнаружена у 5,8% (4/69) детей с энцефалитом в Бангладеш (двое больных умерли) [54]. Описаны случаи энцефалита в Шри-Ланке (5/191), вызванные генотипами HBoV1 (3 случая) и HBoV3 (1 случай) Primate Bocaparvovirus 1 и геновариантом HBoV2 Primate bocaparvovirus 2 (1 случай) [55]. Также ДНК HBoV2 была обнаружена у детей (3/57) с острым вялым параличом неполиовирусной природы в Пакистане [44].

В 70% случаев выявляется коинфекция бокавирусов человека с вирусами герпеса 6 типа, RSV, парагриппа, гриппа и другими [1, 64, 71]. Диарея может быть вызвана не бокапарвовирусом, а агентами коинфекции [1, 72]. В Италии микстинфекции составили 49,1% случаев ОРЗ, обусловленных бокавирусами [34]. В структуре бронхитов соотношение моно- и коинфекции составляет 2:1. По данным отечественных авторов, существует возрастная зависимость встре-

чаемости моно- и микст-инфекции: в группе 0–1 год преобладает микст-инфекция, 1–7 лет — моноинфекция.

Бокапарвовирусные инфекции были выявлены на всех континентах: в Австралии, Великобритании, Германии, Италии, Китае, Корее, Малайзии, Непале, Нигерии, Пакистане, США, Тайланде, Тунисе, Финляндии, Франции, Шотландии [18, 34, 42, 44, 63]. В Пекине более 90% исследованных образцов сывороток крови людей в возрасте от 15 до 70 лет ($n = 142$) содержали IgG-АТ к Primate bocaparvovirus 1 и/или Primate bocaparvovirus 2 [35]. Согласно данным Arthur J.L. (2009) в Австралии Primate bocaparvovirus 2 был третьим (17,2%) по превалентности после ротавируса (39,2%) и астровируса (21,5%), и встречался чаще, чем норовирус GI (13,4%) и аденовирус (4,8%) [5]. Частота встречаемости Primate bocaparvovirus 1 у лиц с респираторной инфекцией варьирует от 1,5 до 22,6%. В Москве бокавирусная инфекция установлена у 14,5% госпитализированных с диагнозом ОРЗ детей ($n = 2395$) [1]. В Санкт-Петербурге ДНК бокапарвовируса человека была выявлена у 1,2% обследованных стационарных больных разного возраста с ОРЗ средней и тяжелой степени ($n = 2202$) [4].

Одновременная циркуляция разных геновариантов бокапарвовирусов человека показана в Шотландии [44], Китае [18], Российской Федерации [1, 4]. На территории Новосибирска были обнаружены вирусы всех генотипов, кроме HBoV2C, но преобладали HBoV2, близкородственные изолятам из Нидерландов, США, Японии и Туниса [7].

В средней климатической зоне максимальная заболеваемость бокапарвовирусными инфекциями приходится на осенние, зимние и весенние месяцы, в субтропическом и муссонном климате — на весну или весну–осень [1]. В Китае максимум заболеваемости отмечен в период с февраля по апрель [71, 83]. В РФ бокавирусные инфекции диагностируются в течение всего года. Пик заболеваемости в разных исследованиях отмечался в осенне-зимние месяцы; второй подъем в апреле–июне [1, 4, 7].

Японские и малазийские исследователи не выявили различий по полу, возрасту или национальности [26]. Однако большинство исследователей отмечают, что болеют в основном дети, особенно в возрасте до трех лет. В Москве и Санкт-Петербурге БПВИ регистрировали у 1,7% детей ($n = 1123$) против 0,3% у взрослых ($n = 1079$); причем БПВИ была отмечена у лиц не старше 26 лет [4]. В Китае соотношение мальчиков и девочек с бокапарвовирусной инфекцией составило 1,36:1 [71, 83]. В Российской Федерации данные о частоте выявления вируса

в зависимости от пола на разных территориях различаются: в Новосибирске различий не обнаружили [7], в Москве соотношение мальчиков и девочек составило 3:1 [1].

Иммунный ответ организма

В остром периоде отмечается непродолжительная виремия [54]. Вирус вызывает системный иммунный ответ [26]. Острая инфекция сопровождается последовательным образованием антител класса IgM и IgG. Серопревалентность IgG-АТ к VP1, VP2, NP1 и NS1 белкам HBoV составляет порядка 71,6; 25,0; 22,5 и 9,8% соответственно [68].

В тяжелых клинических случаях (энцефалиты бокавирусной природы), по данным Mitui M.T. и Morigi D. [54, 55], у пациентов не были обнаружены IgM-антитела к HBoV1–4; IgG-антитела отсутствовали или был определен их низкий уровень.

Было показано, что бокапарвовирусы человека способны регулировать продукцию IFN β . NP1 белок HBoV нарушает взаимодействие IRF-3, ключевого фактора транскрипции IFN α/β , и IFN β промотора, и блокирует IFN β активацию. Этот способ модификации звеньев врожденного иммунитета назвали механизмом свободного уклонения [87]. Также NP1 и VP2 белки ингибируют трансдукцию RLR [23].

Лабораторная диагностика

Клиническим материалом для лабораторной диагностики являются назофарингеальные смывы, фекальные образцы; кровь, цереброспинальная жидкость, моча, жидкость из среднего уха. HBoV2 выявляется чаще в образцах из пищеварительного тракта [44, 54].

Прямое выделение вируса возможно на перевиваемых клеточных линиях HeLa, HEK293, A549; на клетках эпителия дыхательных путей человека, EpiAirway и MucilAir HAE (США), и Epithelix SaRL (Швейцария) [15, 41].

ДНК бокапарвовирусов выявляют методом ПЦР в различных модификациях: nested PCR, real-time PCR. Разработан набор реагентов «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL» производства ЦНИИЭ (Москва) [44, 83]. Есть коммерческие мультиплексные системы детекции ДНК HBoV, в том числе в фекальных образцах: Luminex RVP и Luminex RVP×TAG (Luminex, США) и RespiFinder (Pathofinder, Нидерланды). Вирусная нагрузка в носоглоточных смывах детей составила более 10^5 геном-эквивалентов/мл в первые дни от начала заболевания и в случае моноинфекции, но не превышала 10^3 геном-эквивалентов/мл при микст-инфекции. ДНК HBoV может выделяться из верхних дыхательных путей в течение месяцев после острой инфекции [1, 42].

Антитела к бокапарвовирусам человека можно определять методом Western blot. Тест-системы для иммуноферментного анализа разрабатываются. Они основаны на использовании VP2 вирус-подобных частиц и пептидных последовательностей эпитопов VP2 белка (P1 и P2). Показано, что чувствительность и специфичность тест-системы для определения IgM-АТ на основе последовательностей P1 и P2 составляет 90 и 97,4% по сравнению с тест-системой на основе вирус-подобных частиц [88]. Для обнаружения IgG-АТ предложена более чувствительная тест-система на основе VP1-белка [68].

Требуется проведение дифференциального диагноза с ротавирусом, астровирусом, норовирусом, аденовирусом, вирусами гриппа А, гриппа В, парагриппа 1–4 типов, рино-, метапневмо-, корона- и энтеровирусами и респираторно-синцитиальным вирусом [4, 54].

Специфической терапии бокапарвовирусных инфекций в настоящее время не разработано, но отмечена чувствительность бокавируса человека к цидофовиру [72].

Разрабатываются профилактические препараты на основе HBoV VP2 вирус-подобных частиц. В опытах *in vivo* показана их способность индуцировать выраженный гуморальный и клеточный ответ у мышей [23].

Актуально создание коммерческой ИФА тест-системы.

Род *Tetraparvovirus*

В 2013 г. был образован новый род семейства *Parvoviridae* — *Tetraparvovirus*. В него включены шесть видов вирусов. Вид *Primate tetraparvovirus 1* содержит изоляты, выделенные у человека (*Human parvovirus 4*, PARV4), шимпанзе и горилл (*Chimpanzee parv4*) [22]. Описаны три генотипа *Primate tetraparvovirus 1* (PARV4): PARV4G1, PARV4G2 (изолят PARV5) и PARV4G3. Предположительно, расхождение генотипов произошло 20–30 лет назад [43, 48, 60].

Вирион 20–22 нм диаметром [76]. Геном тетрапарвовируса приматов 1 (5000 нт) содержит два промотора и две открытые рамки считывания: ORF-1 кодирует NS-1, ORF-2 — VP-1 и VP-2.

Неструктурный белок NS-1 (или NS1a, 80 kDa) обеспечивает репликацию вируса. Минорный белок NS1b отличается последовательностью С-конца [47].

Протеины VP-1 (101 kDa) и VP-2 (65 kDa) являются структурными белками капсида. VP1u область содержит PLA2-мотив [47].

Не ясно, способен ли тетрапарвовирус человека реплицироваться автономно и не известно, что является резервуаром для PARV4 в организме. ДНК PARV4 обнаружена в крови, лимфоид-

ной ткани, костном мозге, печени и центральной нервной системе; она может сохраняться в лимфоидной ткани в течение нескольких лет после первичной виремии [10, 25, 43, 48, 51].

Клинико-эпидемиологические особенности тетрапарвовирусной инфекции (ТПВИ)

Доказаны парентеральный и вертикальный пути передачи тетрапарвовируса [17]. Наиболее часто вирус определяется у лиц, употребляющих внутривенно наркотические средства; также инфицируются больные гемофилией, получавшие внутримышечные инъекции, и люди после трансплантации органов [48, 66]. Наличие маркеров тетрапарвовирусной инфекции у людей, не входящих в группу риска (в Гане и Центральной Африке), указывает на существование третьего пути инфицирования, возможно алиментарного [60, 67].

Заражение иммунокомпетентных лиц часто протекает в субклинической форме, без признаков острой вирусной инфекции, но вирусная ДНК может длительно персистировать в организме [16, 60].

Клинически выраженные острые формы тетрапарвовирусной инфекции у детей сочетались с симптомами заболевания верхних и нижних дыхательных путей и пищеварительного тракта. При обследовании больных с ОРЗ в 9,4% случаев были обнаружены IgG- и IgM-АТ к PARV4 [74]. ДНК PARV4 была выделена в спинномозговой жидкости детей первых трех лет жизни с энцефалитом [10].

У взрослых инфекция сопровождалась сыпью, гепатитом [66]. У ВИЧ-положительных инфекция проявлялась в виде неспецифического инфекционного синдрома [3, 51].

Primate tetraparvovirus 1 тератогенный: ДНК вируса определена в плазме новорожденных с водянкой и их матерей. Только один ребенок был доношен до срока. Новорожденные имели как минимум два из указанных симптомов: асцит, плевральный выпот, перикардиальный выпот, отек кожи или многоводие. Показатели гемоглобина составляли от 4,1 до 13 г/дл. Двое детей с врожденной тетрапарвовирусной инфекцией умерли [17].

Тетрапарвовирусная инфекция широко распространена в мире: генотипы 1 и 2 распространены в Европе, Северной Америке и Азии [48, 86], генотип 3 — в Африке [67]. Частота обнаружения ДНК PARV4 в сыворотках крови здоровых людей в Шотландии составила 16,7–22,2%. В Шанхае инфекция циркулировала в течение последних 50 лет с вовлечением около 22% популяции [86]. PARV4 выявляется в крови 2–5% доноров Северной Америки и Европы, в 33% проб концентрированных препаратов фактора коагуляции в Германии [28].

Описаны сезонные изменения заболеваемости тетрапарвовирусной инфекцией [28].

Характерной особенностью PARV4 инфекции является коинфекция с вирусами гепатита В и С (HBV, HCV) и ВИЧ (HIV). По некоторым данным, в США и Европе до 95% ВИЧ-инфицированных потребителей инъекционных наркотиков имеют IgG-АТ к PARV4; ДНК PARV4 определялась среди обследованных пациентов с HIV у 6% в США, у 70% — в Шотландии (в костном мозге и лимфоидных органах) [22, 48]. Среди HCV/HBV-позитивных лиц вирус был обнаружен у 33,3–41,5% в Шанхае; у 30% употреблявших инъекционные наркотики в Англии, в 27,3 и 38,7% образцах плазмы крови пациентов гемодиализа, положительных на HCV и HBV соответственно, во Франции. Инфицирование тетрапарвовирусом приматов 1 увеличивает риск заболевания печени у HBV-позитивных [86]. Описан случай коинфекции PARV4 и парвовируса человека B19 [17].

Иммунный ответ организма

Виремия длится от 30 дней до 12 месяцев. IgM-АТ указывают на острую инфекцию [16, 66]. У ВИЧ-отрицательных лиц описаны случаи персистенции IgM-АТ в течение 9–35 месяцев без образования IgG-антител [17]. IgG-АТ к PARV4 имеют родство к VP2 белку; их отсутствие может быть связано с дефектом гуморального иммунитета. У беременных женщин обнаруживались IgM- и IgG-АТ. У новорожденных с врожденной ТПВИ IgM-АТ не выявлялись, но определялись материнские IgG.

Т-клеточный ответ на PARV4 похож на ответ при хронической или латентной инфекции. Люди с положительным Т-клеточным ответом сохраняли его в течение длительного времени, от 3 месяцев до 3 лет. NS-1 белок вируса содержит эпитоп, который узнается специфическими CD8⁺ Т-клетками (CCR7⁻ и CD45RA) и вызывает продукцию IFN γ [69].

Лабораторная диагностика

Исследуют плазму крови, лимфоидную ткань, костный мозг, биоптаты печени, образцы из центральной нервной системы, назофарингеальные смывы и образцы фекалий [10, 25, 43, 48].

Широко применяется метод ПЦР. Вирусная нагрузка в плазме крови при острой инфекции достигает 10¹⁰ копий/мл. ДНК PARV4 выявляется в течение длительного времени после первичной инфекции [48, 66].

Серологические исследования можно проводить с помощью иммуноблотинга и ИФА [66]. Для создания тест-систем, с помощью вектора, встроенного в клетки дрожжей, получены вирус-подобные частицы на основе VP2 белка [74].

Т-клеточный ответ на PARV4 можно определить *in vitro* в Interferon-gamma ELISpot исследовании. Природу Т-клеточного ответа можно охарактеризовать методом ICS (внутриклеточного цитокинового окрашивания) с использованием приемов проточной цитометрии [69].

Целесообразно выявлять вирус у людей из групп риска по инфекциям с парентеральным путем передачи [86].

Для диагностики тетрапарвовирусной инфекции актуальным является создание диагностических наборов.

Род *Dependoparvovirus*

Род *Dependoparvovirus* (ранее назывался *Dependovirus*) объединяет зависимые от помощника вирусы человека, животных и птиц [22].

Депендопарвовирус человека, первоначально названный аденоассоциированный вирус (human adeno-associated viruses, AAV), был открыт при изучении препаратов аденовируса в 1965 г. [6]. Описаны 20 отдельных серотипов и более 100 рекомбинантных геновариантов AAV. Выделенные у человека изоляты относятся к серотипам AAV1/AAV6; AAV2, AAV3; AAV5; AAV8 (в этой группе также вирусы обезьян) и AAV9, и группируются в клаиды (A–F) [29]. С 2013 г. аденоассоциированные вирусы человека относятся к виду Adeno-associated dependoparvovirus A (AAV 1–4) и виду Adeno-associated dependoparvovirus B (Adeno-associated virus-5, Bovine adeno-associated virus) [22].

Строение вириона и особенности репликации

Капсид аденоассоциированных вирусов 22 нм диаметром. Геном (4700 нт) имеет три ORF α , кодирующие гены *rep*, *cap* и X-ген, и инвертированные терминальные повторы длиной 145 нт, которые обеспечивают образование структуры типа Т-образной шпильки [31].

Ген *rep* кодирует несколько белков: Rep52 и Rep40 участвуют в образовании однонитевых вирусных геномов во время репликации, Rep78 обладает цитопатическим действием и способен запускать клеточный апоптоз. Белок, кодируемый X-геном, принимает участие в репликации и транскрипции вируса [12].

Ген *cap* имеет единственный промотор, p40. В результате альтернативного сплайсинга образуются два транскрипта, кодирующие капсидные белки: большая мРНК — VP1; меньшая — VP2 и VP3. Белок VP1 обеспечивает проникновение вируса в клетку, выход из эндосомы, перемещение через ядерный поровый комплекс, инициацию экспрессии генов вируса. VP1 α участок содержит PLA2 домен, который необходим для развития инфекции. VP2 отвечает за присоединение к рецепторам на поверхности

клетки. VP3 принимает участие в сборке капсида и упаковывании генома [75]. Соотношение белков VP1 (87 kDa), VP2 (72 kDa) и VP3 (62 kDa) в капсиде 1:1:10 соответственно.

Вирусы разных серотипов имеют сродство к разным рецепторам и клеточным типам; различаются по способности вызывать иммунный ответ [29]. Главным рецептором для AAV2 является гепарансульфат-протеогликан, корцепторами выступают интегриновый гетеродимер $\alpha V\beta 5$, рецептор фактора роста фибробластов первого типа и рецептор фактора роста гепатоцитов, с-Met. AAV12 связывается с гепарансульфат-протеогликанами и сиаловой кислотой; AAV4 и AAV5 — с N- и O-связанными сиаловыми кислотами соответственно. AAV5 задействует рецептор фактора роста тромбоцитов [24, 45, 65]. Каждая эндосома содержит один вирион, который выходит в цитозоль pH-зависимым способом. Полностью собранный капсид вируса попадает в нуклеоплазму Rep-зависимым путем через ядерный поровый комплекс [9].

Вирус-помощник определяет литический или лизогенный путь.

Если вируса-помощника нет, геном AAV встраивается в локус AAVS1 (2-kb) на длинном плече 19 хромосомы человека (19q13.3-qter) рядом с мышцеспецифическими генами p85 и геном тропонина T (TNNT1) (19q13.4). AAVS1 область в присутствии Rep-белков является источником вирусной репликации как *in vitro*, так и *in vivo*. Аденоассоциированные вирусы не являются онкогенными: Rep белки супрессируют клеточную трансформацию. ДНК про-вируса делится вместе с клеточным геномом. Наличие единственного сайта встраивания AAV в геноме хозяйской клетки — явление уникальное среди всех известных вирусов эукариот [33, 82, 85]. У человека вирус находится в делящихся и неделящихся клетках печени и селезенки, в клетках прямой кишки и костном мозге; у обезьян — в печени, селезенке и лимфоузлах [29].

В случае коинфекции клетки вирусом-помощником (адено-, герпес-, папиллома- или вакцинным вирусом) Rep-опосредованное извлечение провирусной ДНК приводит к образованию новых вирионов. Возможно, AAV не является абсолютно дефективным вирусом, так как в культуре эпителиальной ткани, моделирующей кожу, в дифференцированных кератиноцитах показан полный репликативный цикл AAV2 без вирусов-помощников или генотоксических агентов [53].

Аденоассоциированные депендопарвовирусы А и В не считаются патогенными для человека и не ассоциируются с известными заболеваниями [31]. Виремия является проявлением инфицирования. Геномную ДНК депендопар-

вовирусов обнаруживают в образцах спермы с нарушениями структуры и функции сперматозоидов, однако связь с мужским бесплодием не доказана [27].

Почти 80% людей имеют анти-AAV антитела [31]. Эти антитела могут сохраняться в крови человека в течение 10 лет и более.

В Пенсильвании (США) при скрининговом исследовании клинического материала, полученного из разных источников (органы доноров, хирургические процедуры, вскрытия) ДНК AAV была обнаружена у 18% обследованных лиц (n = 250) [29].

Обсуждается алиментарный путь распространения инфекции [29]. Диссеминация вируса в популяции людей возможна в результате трансплантаций, например печени. Также обсуждается половой путь передачи вируса [27, 80].

Лабораторная диагностика

Клиническим материалом для проведения лабораторной диагностики являются кровь (плазма, сыворотка) и образцы различных тканей.

Культивирование вируса возможно на линиях клеток опухолей, например 293Т [75].

Была предложена методика выявления генома латентного или персистирующего аденоассоциированного вируса из различных тканей с использованием ПЦР [29].

Серологические исследования проводят методом ИФА, есть коммерческая тест-система «Human Adeno-associated Virus ELISA» (KRISHGEN BioSystems).

Медицинская значимость

Аденоассоциированные депендопарвовирусы А и В рассматриваются в качестве возможного вектора для терапии генетических заболеваний человека. Рекомбинантный вектор AAV (rAAV) может интегрироваться в тканевую культуру клеток в хромосому 19, если Rep-белки находятся в транс-изоформе; rAAV может инфицировать как делящуюся, так и неделящуюся клетку, и персистировать в ядре неделящейся клетки без интеграции в геном в виде кольцевой молекулы ДНК, замкнутой «голова-хвост» (эписомальный конкатемер). Способность рекомбинантного мутантного AAV2 вектора к генетической трансдукции в 3 раза превышает дикий тип [81]. Вирусы разных серотипов способны доставлять гены в определенные типы клеток: 1 и 5 серотип — в клетки эндотелия сосудов; 2 серотип — в скелетные мышцы, гладкие мышцы сосудов, нейроны и гепатоциты; AAV6 серотипа инфицирует клетки эпителия дыхательных путей и обладает более низкой иммуногенностью, чем вирус серотипа 2; AAV7 серотипа имеет очень высокий уровень трансдукции клеток скелетных мышц мыши, вирус серотипа 8

транслирует гепатоциты [36, 49]. Серотипы AAV7 и AAV8, изолированные от обезьян, могут иметь преимущества для использования в генной терапии человека [29, 33].

Вектор rAAV способен обеспечить длительную экспрессию генов в мышечной, печеночной тканях, головном мозге, сетчатке глаза; является безопасным, стабильным, неиммуногенным и продуцируется в высоких титрах (10^{12} инфекционных частиц на мл) [56]. Препараты на основе rAAV2 для лечения муковисцидоза, гемофилии, болезни Паркинсона, болезни Канавана, мышечной дистрофии, синдрома Бильшовского—Янского и других заболеваний проходят клинические испытания [13].

Также AAV2 был испытан в качестве вектора для производства человеческих плюрипотентных стволовых клеток (iPS) из соматических клеток печени взрослого человека для терапевтических трансплантаций [58].

Кроме того, AAV2 рассматривается в качестве онколитического вируса [13].

Род *Protoparvovirus*

Род *Protoparvovirus* был выделен на основании характерного паттерна повторяющихся сайтов связывания NS1 [84]. Вирусы этой группы обнаружены у человека и животных. В обзоре описываются три вида — Primate protoparvovirus 1 и Primate protoparvovirus 2 (Tusavirus 1), патогенные для человека, и Rodent Protoparvovirus 1, патогенный для грызунов. Все эти вирусы представляют интерес для терапии человека.

Вид Primate protoparvovirus 1 объединил буфавирусы человека (Bufavirus, BuV, BuPV), впервые обнаруженные в 2012 г. при проведении метагеномного анализа клинических образцов из Буркина-Фасо [62]. Известны три генотипа буфавирусов: BuV1 (BuPV1a, BuPV1b), BuV2 (BuPV2) и BuV3 (BuPV3) [84].

Геном буфавируса человека (5000 нт) кодирует неструктурный протеин NS1 и структурные протеины VP1 и VP2.

Белок NS1 (671 а.о.) содержит АТФ или ГТФ-связывающий мотив и два консервативных мотива инициации репликации. Были определены два возможных сайта сплайсинга, донорный сайт (2027 нт) и акцепторный сайт (2396 нт).

Белок VP1 буфавируса (707 а.о.) содержит PLA2 и высококонсервативный кальций-связывающий сайт. VP2 (569 а.о.) имеет тесное сходство с белками амдовирусов [62].

Буфавирус человека был обнаружен в Тунисе, Буркина-Фасо, Бутане, Финляндии, Нидерландах, Китае [40, 77, 84].

Клинические проявления буфавирусной инфекции мало изучены. Предполагается алиментарный путь передачи инфекции [40].

Обсуждается, но не доказана полностью, роль Primate protoparvovirus 1 в качестве возбудителя диареи. Частота обнаружения ДНК BuPV варьировалась от 0,8 до 4% от числа обследованных лиц с острой диареей [40, 84]. В Финляндии ДНК буфавируса обнаружена в 1,1% случаев гастроэнтерита (7/629) у лиц старше 21 года [77]. Низкие титры вируса в клинических образцах могут указывать на длительную персистенцию вируса в организме человека.

Описана коинфекция буфавируса с норовирусом [77, 84].

Для лабораторной диагностики в качестве клинического материала используют образцы фекалий.

Широко применяются молекулярно-генетические методы исследования. Диагностика может выполняться с помощью гнездовой ПЦР по NS1 области генома BuPV [62]. Вирусная нагрузка составляет 10^3 – 10^4 копий ДНК/мл фекального супернатанта [77].

Дифференциальный диагноз требуется с боксавирусом, норовирусом, аденовирусом, астровирусом, саливирусом, косавирусом, ротавирусом, а также бактериальными кишечными инфекциями.

Primate protoparvovirus 2 (Tusavirus 1) открыт в 2014 г. при проведении метагеномного анализа образцов фекалий 18-ти месячной девочки из Туниса с диареей, без лихорадки, рвоты или обезвоживания. Изолят был назван Tusavirus 1 (сокращенно от Tunisian stool-associated parvovirus). Геном Tusavirus 1 составил 4,424 нт. Вирус отличается от других представителей рода *Protoparvovirus* и наиболее близок к вирусу крыс Kilham rat parvovirus [61].

Вид Rodent protoparvovirus 1 (RoPV1) включает в себя 17 вирусов и штаммов от разных животных: Kilham rat virus (KRV), H-1 parvovirus (H1-PV), Minute virus of mice (MVM), Mouse parvovirus (MPV), LuIII, Tumor virus X (TVX) [22]. Природный хозяин для TVX и LuIII не известен. Геноварианты RoPV1 не патогенны для человека [32, 59].

Геном большинства протопарвовирусов грызунов 1 (5000 нт) содержит два промотора и короткие терминальные палиндромы слева (120 нт) и справа (250 нт). P4 промотор обеспечивает экспрессию неструктурных генов NS1, NS2 и NS3; P38 — синтез структурных белков VP1, VP2 и VP3 [50, 57].

Белок NS1 (672 а.о., 83 kDa) имеет NLS, ДНК-связывающий домен, домен транскрипционной активации; регулирует промоторы и репликацию, способен индуцировать арест клеточного цикла и апоптоз. Протеин NS2 (25 kDa) участвует в репликации и выходе вирионов из клеток. Существуют три изоформы: NS2Y, NS2L и NS2P. Маленький протеин NS3 явля-

ется высококонсервативным у всех членов рода *Protoparvovirus*, и способен блокировать процессинг МНС типа I и/или запускать стресс-индуцированную клеточную гибель. NS белки контролируют работу клеточных транскрипционных факторов [50].

Протеин VP1 обеспечивает перемещение вириона из эндосомы в ядро. VP1u область (140–230 а.о.) содержит NLS, и важна для вирусной инфекционности. VP2 образует 90% поверхности капсида. VP3 белок образуется из VP2. Он обнаружен в инфекционных частицах [11].

Для геновариантов H-1PV и MVM определены рецепторы — $\alpha 2$ -3 и $\alpha 2$ -8 N-связанные сиаловые кислоты.

Вирусная ДНК не встраивается в клеточный геном и не активна до наступления S-фазы. Репликация осуществляется в «автономных парвовирус-ассоциированных репликативных телах». Вирус влияет на клеточную пролиферацию и трансформацию и нарушает клеточный метаболизм [8, 30, 37].

Rodent Protoparvovirus 1 выделяют на клеточных линиях человека и животных: например вирус H-1 — на U937, SK29-Mel-1; вирус TVX — на HeLa и линии клеток амниона человека [30, 32, 37, 59, 78].

Лабораторной моделью для изучения вирусов вида RoPV1 являются крысы и мыши разных линий.

Медицинская значимость

Протопарвовирусы грызунов 1 обладают онколитическими свойствами [46, 50, 57]. Геновариант TVX способен убивать клетки линий меланомы даже при внесении очень маленького количества инфекционных частиц (MOI) [79]. LuIII инфицирует и убивает гетерогенные линии клеток глиомы человека — U87, U373, U118, MO591, A172.

Изоляты RoPV1 характеризуются выраженным онкотропизмом и реплицируются преимущественно в трансформированных клетках [30, 32, 59].

Показано, что у иммунокомпетентных животных, в отличие от иммунокомпрометированных, происходит значительная редукция числа опухолевых клеток и размера опухоли,

вплоть до полного выздоровления. Благодаря онколитическому действию RoPV1 части разрушенных опухолевых клеток индуцируют реакцию иммунной системы. Образуются опухолеспецифичные цитотоксические Т-лимфоциты, и включается звено врожденного иммунитета [32]. Заражение мононуклеаров периферической крови человека штаммом H-1 вызывает пролиферацию Т-клеток, высвобождение TNF α (ранний ответ) и IFN γ (поздний ответ).

Таким образом, вирусы Rodent Protoparvovirus 1 являются перспективными для лечения онкобольных. Проходит фазу I/IIa клинических испытаний препарат ParvOx01 (H-1) для лечения злокачественной глиобластомы [30, 50].

Неклассифицированные вирусы

Очевидно, что использование молекулярно-биологических методов в медицинской вирусологии позволит выявить ранее не известные вирусные агенты, в том числе в семействе *Parvoviridae*. Например, при проведении метагеномного анализа у больных с неустановленным диагнозом, был выделен гибридный парвовирус-подобный вирус NIH-CQV (National Institutes of Health — Chongqing virus) (геном 3780 нт), родственный семействам *Circoviridae* и *Parvoviridae*. Источник NIH-CQV не известен и его роль в человеческой популяции не определена [70].

Заключение

Все известные в настоящее время парвовирусы человека, относящиеся к пяти родам подсемейства *Parvovirinae*, представляют значительный интерес для теоретической и практической вирусологии.

Требуют дальнейшего изучения пути распространения вирусов, персистенция вирусов в организме человека, иммунный ответ на инфекцию. Особую проблему представляют тератогенные вирусы и вирусы, передающиеся парентеральным путем, в том числе PV B19 и PARV4. Некоторые парвовирусы, обнаруженные у человека, могут стать инструментом для терапии онкологических и генетических заболеваний.

Список литературы/References

- Исаева Е.И., Морозова О.В., Ветрова Е.Н., Вартанян Р.В., Козулина И.С. Детекция, идентификация и количественные оценки бокавируса у детей с острыми респираторными вирусными инфекциями и гастроэнтеритами в Москве // Живые и биокосные системы. 2014. № 9. [Isaeva E.I., Morozova O.V., Vetrova E.N., Vartanyan R.V., Kozulina I.S. Detection, identification and quantitation of bocavirus among children with acute respiratory viral infections and gastroenteritis in Moscow. *Zhivye i biokosnye sistemy = Living and Nonliving Systems*, 2014, no. 9. URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-9/article-18> (02.02.2017). (In Russ.)]
- Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю. Парвовирус B19 человека: характеристика возбудителя, распространение и диагностика обусловленной им инфекции // Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 4. С. 311–322. [Lavrentyeva I.N.,

- Antipova A.Y. Human parvovirus B19: virus characteristics, distribution and diagnostics of parvovirus infection. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, vol. 3, no. 4, pp. 311–322. doi: 10.15789/2220-7619-2013-4-311-322 (In Russ.)
3. Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Семенов А.В. Генотипирование изолятов парвовируса B19, циркулирующих в Северо-Западном федеральном округе России // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2013. № 6. С. 36–43. [Lavrentieva I.N., Antipova A.Yu., Semenov A.V., Bichurina M.A. Genotyping of Parvovirus B19 isolates circulating in North-Western Federal District of Russia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2013, no. 6, pp. 36–43. (In Russ.)]
 4. Львов Н.И., Писарева М.М., Мальцев О.В., Бузицкая Ж.В., Афанасьева В.С., Михайлова М.А., Го А., Янина М.А., Резниченко Н.А., Грудинин М.П., Жданов К.В., Лобзин Ю.В. Особенности этиологической структуры ОРВИ в отдельных возрастных и профессиональных группах населения Санкт-Петербурга в эпидемический сезон 2013–2014 гг. // Журнал инфектологии. 2014. Т. 6, № 3. С. 60–70. [Lvov N.I., Pisareva M.M., Maltsev O.V., Buzitskaya J.V., Afanasieva V.S., Mikhailova M.A., Go A., Yanina M.A., Reznichenko N.A., Grudin M.P., Zhdanov K.V., Lobzin Y.V. The features of ARVD etiological structure in different age and professional population groups in Saint-Petersburg during 2013–2014 epidemic season. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2014, vol. 6, no. 3, pp. 62–70. doi: 10.22625/2072-6732-2014-6-3-62-70 (In Russ.)]
 5. Arthur J.L., Higgins G.D., Davidson G.P., Givney R.C., Ratcliff R.M. A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children. *PLoS Pathog.*, 2009, vol. 5, iss. 4: e1000391. doi: 10.1371/journal.ppat.1000391
 6. Atchison R.W., Casto B.C., Hammon W.M. Adenovirus-associated defective virus particles. *Science*, 1965, vol. 14, no. 9, pp. 754–756.
 7. Babkin I.V., Tyumentsev A.I., Tikunov A.Y., Zhirakovskaja E.V., Netesov S.V., Tikunova N.V. A study of the human bocavirus replicative genome structures. *Virus Res.*, 2015, vol. 195, pp. 196–202. doi: 10.1016/j.virusres.2014.10.019
 8. Bär S., Rommelaere J., Nüesch J.P. Vesicular transport of progeny parvovirus particles through ER and Golgi regulates maturation and cytolysis. *PLoS Pathog.*, 2013, vol. 9: e1003605. doi: 10.1371/journal.ppat.1003605
 9. Bartlett J.S., Wilcher R., Samulski R.J. Infectious entry pathway of adeno-associated virus and adeno-associated virus vectors. *J. Virol.*, 2000, vol. 74, pp. 2777–2785.
 10. Benjamin L.A., Lewthwaite P., Vasanthapuram R., Zhao G., Sharp C., Simmonds P., Wang D., Solomon T. Human parvovirus 4 as potential cause of encephalitis in children, India. *Emerg. Infect. Dis.*, 2011, vol. 17, pp. 1484–1487. doi: 10.3201/eid1708.110165
 11. Canaan S., Zadori Z., Ghomashchi F., Bollinger J., Sadilek M., Moreau M.E., Tijssen P., Gelb M.H. Interfacial enzymology of parvovirus phospholipases A2. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, pp. 14502–14508. doi: 10.1074/jbc.M312630200
 12. Cao M., You H., Hermonat P.L. The X gene of adeno-associated virus 2 (AAV2) is involved in viral DNA replication. *PLoS One*, 2014, vol. 9, iss. 8: e104596. doi: 10.1371/journal.pone.0104596
 13. Carter B.J. Adeno-associated virus vectors in clinical trials. *Human Gene Therapy*, 2005, vol. 16, pp. 541–550. doi: 10.1089/hum.2005.16.541
 14. Chandramouli S., Medina-Selby A., Coit D., Schaefer M., Spencer T., Brito L.A., Zhang P., Otten G., Mandl C.W., Mason P.W., Dormitzer P.R., Settembre E.C. Generation of a parvovirus B19 vaccine candidate. *Vaccine*, 2013, vol. 31, pp. 3872–3878. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.06.062
 15. Chen A.Y., Cheng F., Lou S., Luo Y., Liu Z., Zhengwen L., Delwart E., Pintel D., Jianming Q. Characterization of the gene expression profile of human bocavirus. *Virology*, 2010, vol. 403, no. 2, pp. 145–154. doi: 10.1016/j.virol.2010.04.014
 16. Chen M.Y., Hung C.C., Lee K.L. Detection of human parvovirus 4 viremia in the follow-up blood samples from seropositive individuals suggests the existence of persistent viral replication or reactivation of latent viral infection. *Virol. J.*, 2015, vol. 19, no. 12, pp. 94. doi: 10.1186/s12985-015-0326-0
 17. Chen M.Y., Yang Sh.-J., Hung Ch.-Ch. Placental transmission of Human Parvovirus 4 in newborns with hydrops, Taiwan. *Emerg. Infect. Dis.*, 2011, vol. 17, no. 10, pp. 1954–1956. doi: 10.3201/eid1710.101841
 18. Cheng W., Chen J., Xu Z., Yu J., Huang C., Jin M., Li H., Zhang M., Jin Y., Duan Zh. Phylogenetic and recombination analysis of human bocavirus 2. *BMC Infect. Dis.*, 2011, vol. 11: 50. doi: 10.1186/1471-2334-11-50
 19. Chuang C.Y., Kao Ch.L., Huang L.-M., Lu Ch.-Y., Shao P.-L., Lee P.-I., Chang L.-Y. Human bocavirus as an important cause of respiratory tract infection in Taiwanese children. *J. Microbiol., Immunol. Infect.*, 2011, vol. 44, pp. 323–327. doi: 10.1016/j.jmii.2011.01.036
 20. Corcoran C., Hardie D., Yeats J., Smuts H. Genetic variants of Human Parvovirus B19 in South Africa: cocirculation of three genotypes and identification of a novel subtype of genotype 1. *J. Clin. Microbiol.*, 2010, vol. 48, no. 1, pp. 137–142. doi: 10.1128/JCM.00610-09
 21. Cossart Y.E., Field A.M., Cant B., Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet*, 1975, vol. 1, no. 7898, pp. 72–73.
 22. Cotmore S.F., Agbandje-McKenna M., Chiorini J.A., Gatherer D., Mukha D.V., Pintel D.J., Qiu J., Soderlund-Venermo M., Tattersall P., Tijssen P. Rationalization and extension of the taxonomy of the family Parvoviridae. In: ICTV official taxonomy: Updates since the 8th Report, code 2013.001a-aaaV. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), 2013. 65 p.
 23. Deng Z.H., Hao Y.X., Yao L.H., Xie Z.P., Gao H.C., Xie L.Y., Zhong L.L., Zhang B., Cao Y.D., Duan Z.J. Immunogenicity of recombinant human bocavirus-1,2 VP2 gene virus-like particles in mice. *Immunology*, 2014, vol. 142, no. 1, pp. 58–66. doi: 10.1111/imm.12202
 24. Di Pasquale G., Davidson B.L., Stein C.S., Martins I., Scudiero D., Monks A., Chiorini J.A. Identification of PDGFR as a receptor for AAV-5 transduction. *Nat. Med.*, 2003, vol. 9, pp. 1306–1312. doi: 10.1038/nm929
 25. Drexler J.F., Reber U., Muth D., Herzog P., Annan A., Ebach F., Sarpong N., Acquah S., Adlkofer J., Adu-Sarkodie Y., Panning M., Tannich E., May J., Drosten C., Eis-Hübinger A.M. Human parvovirus 4 in nasal and fecal specimens from children, Ghana. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012, vol. 18, pp. 1650–1653. doi: 10.3201/eid1810.111373
 26. Endo R., Ishiguro N., Kikuta H., Teramoto S., Shirkoohi R., Ma X., Ebihara T., Ishiko H., Ariga T. Seroepidemiology of human bocavirus in Hokkaido prefecture, Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 2007, vol. 45, pp. 3218–3223. doi: 10.1128/JCM.02140-06

27. Erles K., Rohde V., Thaele M., Roth S., Edler L., Schlehofer J.R. DNA of adeno-associated virus (AAV) in testicular tissue and in abnormal semen samples. *Hum. Reprod.*, 2001, vol. 16, no. 11, pp. 2333–2337.
28. Fryer J.F., Delwart E., Hecht F.M., Bernardin F., Jones M.S., Shah N., Baylis S.A. Frequent detection of the parvoviruses, PARV4 and PARV5, in plasma from blood donors and symptomatic individuals. *Transfusion*, 2007, vol. 47, pp. 1054–1061. doi: 10.1111/j.1537-2995.2007.01235.x
29. Gao G., Vandenberghe L.H., Alvira M.R., Lu Y., Calcedo R., Zhou X., Wilson J.M. Clades of Adeno-associated viruses are widely disseminated in human tissues. *J. Virol.*, 2004, vol. 78, no. 12, pp. 6381–6388. doi: 10.1128/JVI.78.12.6381-6388.2004
30. Geletneky K., Rommelaere J. Oncolytic parvovirus for cancer of the brain: are we approaching human trials? *Future Neurol.*, 2010, vol. 5, no. 6, pp. 783–785. doi: 10.2217/fnl.10.63
31. Gonçalves M.A.F.V. Adeno-associated virus: from defective virus to effective vector. *Viol. J.*, 2005, vol. 2: 43. doi: 10.1186/1743-422X-2-43
32. Grekova S.P., Rommelaere J., Raykov Z. Parvoviruses—tools to fine-tune anticancer immune responses. *OncoImmunology*, 2012, vol. 1, no. 8, pp. 1417–1419. doi: 10.4161/onci.21097
33. Grieger J.C., Samulski R.J. Adeno-associated virus as a gene therapy vector: vector development, production and clinical applications. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 2005, no. 99, pp. 119–145.
34. Guido M., Quattrocchi M., Campa A., Zizza A., Grima P., Romano A., De Donno A. Human metapneumovirus and human bocavirus associated with respiratory infection in Apulian population. *Virology*, 2011, vol. 417, pp. 64–70. doi: 10.1016/j.virol.2011.04.016
35. Guo L., Wang Y., Zhou H., Wu Ch., Song J., Li J., Paranhos-Baccala G., Vernet G., Wang J., Hung T. Differential seroprevalence of Human Bocavirus species 1–4 in Beijing, China. *PLoS ONE*, 2012, vol. 7, no. 6, pp. e39644. doi: 10.1371/journal.pone.0039644
36. Halbert C.L., Allen J.M., Miller A.D. Adeno-associated virus type 6 (AAV6) vectors mediate efficient transduction of airway epithelial cells in mouse lungs compared to that of AAV2 vectors. *J. Virol.*, 2001, vol. 75, no. 14, pp. 6615–6624. doi: 10.1128/JVI.75.14.6615-6624.2001
37. Hall Auer C., Kronauer G., Siegl G. Parvoviruses as contaminants of permanent human cell lines. *Arch. Gesamte Virusforsch.*, 1971, vol. 35, pp. 80–90. doi: 10.1007/BF01249755
38. Hamza I.A., Jurzik L., Wilhelm M., Uberla K. Detection and quantification of human bocavirus in river water. *J. Gen. Virol.*, 2009, vol. 90, pp. 2634–2637. doi: 10.1099/vir.0.013557-0
39. Heegard E.D., Brown K.E. Human parvovirus B19. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2002, vol. 15, no. 3, pp. 485–505.
40. Huang D.-D., Wang W., Lu Q.B., Zhao J., Guo Ch.T., Wang H.Y., Zhang X.A., Tong Y.G., Liu W., Cao W.Ch. Identification of Bufavirus-1 and Bufavirus-3 in feces of patients with acute diarrhea, China. *Scientific Reports*, 2015, no. 5: 13272. doi: 10.1038/srep13272
41. Huang Q., Deng X., Yan Z., Cheng F., Luo Y., Shen W., Lei-Butters D.C., Chen A.Y., Li Y., Tang L., Söderlund-Venermo M., Engelhardt J.F., Qiu J. Establishment of a reverse genetics system for studying human bocavirus in human airway epithelia. *PLoS Pathog.*, 2012, vol. 8, iss. 8: e1002899. doi: 10.1371/journal.ppat.1002899
42. Jacques J., Moret H., Renois F., Leveque N., Motte J., Andreoletti L. Human Bocavirus quantitative DNA detection in French children hospitalized for acute bronchiolitis. *J. Clin. Virol.*, 2008, vol. 43, pp. 142–147. doi: 10.1016/j.jcv.2008.05.010
43. Jones M.S., Kapoor A., Lukashov V.V., Simmonds P., Hecht F., Delwart E. New DNA viruses identified in patients with acute viral infection syndrome. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, pp. 8230–8236. doi: 10.1128/JVI.79.13.8230-8236.2005
44. Kapoor A., Simmonds P., Slikas B., Li L., Bodhidatta L., Sethabutr O., Triki H., Bahri O., Oderinde B.S., Baba M., Bukbuk D.N., Besser J., Bartkus J., Delwart E. Human bocaviruses are highly diverse, dispersed, recombination prone, and prevalent in enteric infections. *J. Infect. Dis.*, 2010, vol. 201, no. 11, pp. 1633–1643. doi: 10.1086/652416
45. Kashiwakura Y., Tamayose K., Iwabuchi K., Hirai Y., Shimada T., Matsumoto K., Nakamura T., Oshimi K., Daida H. Hepatocyte growth factor receptor is a coreceptor for adeno-associated virus type 2 infection. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, pp. 609–614. doi: 10.1128/JVI.79.1.609-614.2005
46. Koks C.A.E., De Vleschouwer S., Graf N., Van Gool S.W.N. Immune suppression during oncolytic virotherapy for high-grade glioma: yes or no? *J. Cancer*, 2015, vol. 6, pp. 203–217. doi: 10.7150/jca.10640
47. Lou S., Xu B., Huang Q., Zhi N., Cheng F., Wong S., Brown K., Delwart E., Liu Zh., Qiu J. Molecular characterization of the newly identified human parvovirus 4 in the family Parvoviridae. *Virology*, 2012, vol. 422, no. 1, pp. 59–69. doi: 10.1016/j.virol.2011.09.033
48. Manning A., Willey S.J., Bell J.E., Simmonds P. Comparison of tissue distribution, persistence, and molecular epidemiology of parvovirus B19 and novel human parvoviruses PARV4 and human bocavirus. *J. Infect. Dis.*, 2007, vol. 195, no. 9, pp. 1345–1352. doi: 10.1086/513280
49. Manno C.S., Chew A.J., Hutchison S., Larson P.J., Herzog R.W., Arruda V.R., Tai S.J., Ragni M.V., Thompson A., Ozelo M., Couto L.B., Leonard D.G., Johnson F.A., McClelland A., Scallan C., Skarsgard E., Flake A.W., Kay M.A., High K.A., Glader B. AAV-mediated factor IX gene transfer to skeletal muscle in patients with severe hemophilia B. *Blood*, 2003, vol. 101, no. 8, pp. 2963–2972. doi: 10.1182/blood-2002-10-3296
50. Marchini A., Bonifati S., Scott E.M., Angelova A.L., Rommelaere J. Oncolytic parvoviruses: from basic virology to clinical applications. *Viol. J.*, 2015, vol. 12: 16. doi: 10.1186/s12985-014-0223-y
51. Matthews Ph.C., Malik A., Simmons R., Sharp C., Simmonds P., Klennerman P. PARV4: an emerging tetraparvovirus. *PLOS Pathog.*, 2014, vol. 10, no. 5: e1004036. doi: 10.1371/journal.ppat.1004036
52. Meriluoto M., Hedman L., Tanner L., Simell V., Mäkinen M., Simell S., Mykkänen J., Korpelainen J., Ruuskanen O., Honen J., Knip M., Simell O., Hedman K., Söderlund-Venermo M. Association of human bocavirus 1 infection with respiratory disease in childhood follow-up study, Finland. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012, vol. 18, pp. 264–271. doi: 10.3201/eid1802.111293
53. Meyers C., Mane M., Kokorina N., Alam S., Hermonatt P.L. Ubiquitous human adeno-associated virus type 2 autonomously replicates in differentiating keratinocytes of a normal skin model. *Virology*, 2000, vol. 272, pp. 338–346. doi: 10.1006/viro.2000.0385

54. Mitui M.T., Shahnawaz Bin Tabib S.M., Matsumoto T., Khanam W., Ahmed S., Mori D., Akhter N., Yamada K., Kabir L., Nishizono A., Söderlund-Venermo M., Ahmed K. Detection of human bocavirus in the cerebrospinal fluid of children with encephalitis. *Clin. Infect. Dis.*, 2012, vol. 54, no. 7, pp. 964–967. doi: 10.1093/cid/cir957
55. Mori D., Ranawaka U., Yamada K., Rajindrajith Sh., Miya K., Perera H.K.K., Matsumoto T., Dassanayake M., Mitui M.T., Mori H., Nishizono A., Söderlund-Venermo M., Ahmed K. Human bocavirus in patients with encephalitis Sri Lanka, 2009–2010. *Emerg. Infect. Dis.*, 2013, vol. 19, no. 11, pp. 1859–1862. doi: 10.3201/eid1911.121548
56. Mueller Ch., Chulay J.D., Trapnell B.C., Humphries M., Carey B., Sandhaus R.A., McElvaney N.G., Messina L., Tang Q., Rouhani F.N., Campbell-Thompson M., Fu A.D., Yachnis A., Knop D.R., Ye G., Brantly M., Calcedo R., Somanathan S., Richman L.P., Vonderheide R.H., Hulme M.A., Brusko T.M., Wilson J.M., Flotte T.R. Human Treg responses allow sustained recombinant adeno-associated virus-mediated transgene expression. *J. Clin. Invest.*, 2013, vol. 123, pp. 5310–5318. doi: 10.1172/JCI70314
57. Nüesch J.P.F., Lacroix J., Marchini A., Rommelaere J. Molecular pathways: rodent parvoviruses — mechanisms of oncolysis and prospects for clinical cancer treatment. *Clin. Cancer Res.*, 2012, vol. 18, no. 13, pp. 3516–3523. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2325
58. Oliveira E.M., Phillips M.I. Associated adeno virus vector for producing induced pluripotent stem cells (IPS) for human somatic cells. In: Stem cells in clinic and research. Ed. A. Gholamrezanezhad. *InTech*, 2011, pp. 747–764. doi: 10.5772/22823
59. Paglino J.C., Ozduman K., Van den Pol A.N. LuIII parvovirus selectively and efficiently targets, replicates in, and kills human glioma cells. *J. Virol.*, 2012, vol. 86, no. 13, pp. 7280–7291. doi: 10.1128/JVI.00227-12
60. Panning M., Kobbe R., Vollbach S., Drexler J.F., Adjei S., Adjei O., Drosten Ch., May J., Eis-Hübinger A.M. Novel human parvovirus 4 genotype 3 in infants, Ghana. *Emerg. Infect. Dis.*, 2010, vol. 16, pp. 1143–1146. doi: 10.3201/eid1607.100025
61. Phan T.G., Sdiri-Loulizi K., Aouni M., Ambert-Balay K., Pothier P., Deng X., Delwart E. New parvovirus in child with unexplained diarrhea, Tunisia. *Emerg. Infect. Dis.*, 2014, vol. 20, no. 11, pp. 1911–1913. doi: 10.3201/eid2011.140428
62. Phan T.G., Vo N.P., Bonkoungou I.J., Kapoor A., Barro N., O’Ryan M., Kapusinszky B., Wang Ch., Delwarta E. Acute diarrhea in West African children: diverse enteric viruses and a novel parvovirus genus. *J. Virol.*, 2012, vol. 86, no. 20, pp. 11024–11030. doi: 10.1128/JVI.01427-12
63. Tg Rogayah T.A.R., Fauziah M.K., Apandi Y.M., Zarina M.Z., Nur Izmawati A.R., Nur Azrenawaty M.N., Tg Aman Arif T.M.A.S., Zainah S. Molecular epidemiology of human bocavirus in children with acute respiratory infections in Malaysia. *Innov. J. Med. Health Sci.*, 2014, vol. 4, pp. 319–323.
64. Schildgen O., Müller A., Allander T., Mackay I.M., Völz S., Kupfer B., Simon A. Human bocavirus: passenger or pathogen in acute respiratory tract infections? *Clin. Microbiol. Rev.*, 2008, vol. 21, no. 2, pp. 291–304. doi: 10.1128/CMR.00030-07
65. Schmidt M., Voutetakis A., Afione S., Zheng C., Mandikian D., Chiorini J.A. Adeno-associated virus type 12 (AAV12): a novel AAV serotype with sialic acid- and heparan sulfate proteoglycan-independent transduction activity. *J. Virol.*, 2008, vol. 82, pp. 1399–1406. doi: 10.1128/JVI.02012-07
66. Sharp C.P., Lail A., Donfield S., Gomperts E.D., Simmonds P. Virologic and clinical features of primary infection with human parvovirus 4 in subjects with hemophilia: frequent transmission by virally inactivated clotting factor concentrates. *Transfusion*, 2012, vol. 52, pp. 1482–1489. doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03420.x
67. Sharp C., Vermeulen M., Nébié Y., Djoko C.F., LeBreton M., Tamoufe U., Rimoin A.W., Kayembe P.K., Carr J.K., Servant-Delmas A., Laperche S., Harrison G.L., Pybus O.G., Delwart E., Wolfe N.D., Saville A., Lefrère J.J., Simmonds P. Changing epidemiology of human parvovirus 4 infection in sub-Saharan Africa. *Emerg. Infect. Dis.*, 2010, vol. 16, pp. 1605–1607. doi: 10.3201/eid1610.101001
68. Shirkoohi R., Endo R., Ishiguro N., Teramoto Sh., Kikuta H., Ariga T. Antibodies against structural and nonstructural proteins of human bocavirus in human sera. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2010, vol. 17, no. 1, pp. 190–193. doi: 10.1128/CVI.00355-09
69. Simmonds R., Sharp C., Levine J., Bowness P., Simmonds P., Cox A., Klenerman P. Evolution of CD8⁺ T cell responses after acute PARV4 infection. *J. Virol.*, 2013, vol. 87, pp. 3087–3096. doi: 10.1128/JVI.02793-12
70. Smuts H., Kew M., Khan A., Korsman S. Novel hybrid parvovirus-like virus, NIH-CQV/PHV, contaminants in silica column-based nucleic acid extraction kits. *J. Virol.*, 2014, vol. 88, no. 2, pp. 1398. doi: 10.1128/JVI.03206-13
71. Song J., Jin Y., Xie Zh., Gao H., Xiao N., Chen W., Xu Z., Yan K., Zhao Y., Hou Y., Duan Zh. Novel human bocavirus in children with acute respiratory tract infection. *Emerg. Infect. Dis.*, 2010, vol. 16, no. 2, pp. 324–327. doi: 10.3201/eid1602.090553
72. Streiter M., Malecki M., Prokop A., Schildgen V., Lüsebrink J., Guggemos A., Wibkirchen M., Weib M., Cremer R., Brockmann M., Schildgen O. Does human bocavirus infection depend on helper viruses. A challenging case report. *Viol. J.*, 2011, vol. 8: 417. doi: 10.1186/1743-422X-8-417
73. Sun B., Cai Y., Li Y., Li J., Liu K., Li Y., Yang Y. The nonstructural protein NP1 of human bocavirus 1 induces cell cycle arrest and apoptosis in HeLa cells. *Virology*, 2013, vol. 440, pp. 75–83. doi: 10.1016/j.virol.2013.02.013
74. Tamošiūnas P.L., Simutis K., Kodzė I., Firantienė R., Ėmužytė R., Petraitytė-Burneikienė R., Žvirblienė A., Sasnauskas K. Production of human parvovirus 4 VP2 virus-like particles in yeast and their evaluation as an antigen for detection of virus-specific antibodies in human serum. *Intervirology*, 2013, vol. 56, no. 5, pp. 271–277. doi: 10.1159/000353112
75. Tu M., Liu F., Chen Sh., Wang M., Cheng A. Role of capsid proteins in parvoviruses infection. *Viol. J.*, 2015, vol. 12: 114. doi: 10.1186/s12985-015-0344-y
76. Tuke Ph.W., Parry R.P., Appleton H. Parvovirus PARV4 visualization and detection. *J. Gen. Virol.*, 2010, vol. 91, pp. 541–544. doi: 10.1099/vir.0.014852-0
77. Väisänen E., Kuisma I., Phan T.G., Delwart E., Lappalainen M., Tarkka E., Hedman K., Söderlund-Venermo M. Bufavirus in feces of patients with gastroenteritis, Finland. *Emerg. Infect. Dis.*, 2014, vol. 20, no. 6, pp. 1077–1079. doi: 10.3201/eid2006.131596
78. Vollmers E.M., D’Abramo A.Jr., Cotmore S.F., Tattersall P. Genome sequence of Tumor Virus X, a member of the genus Protoparvovirus in the family Parvoviridae. *Genome Announc.*, 2014, vol. 2, no. 4: e00758-14. doi: 10.1128/genomeA.00758-14

79. Vollmers E.M., Tattersall P. Distinct host cell fates for human malignant melanoma targeted by oncolytic rodent parvoviruses. *Virology*, 2013, vol. 446, pp. 37–48.
80. Walz C.M., Anisi T.R., Schlehofer J.R., Gissmann L., Schneider A., Muller M. Detection of infectious adeno-associated virus particles in human cervical biopsies. *Virology*, 1998, vol. 247, no. 97–105.
81. Wang Z., Ma H.I., Li J., Sun L., Zhang J., Xiao X. Rapid and highly efficient transduction by double-stranded adeno-associated virus vectors *in vitro* and *in vivo*. *Gene Ther.*, 2003, vol. 10, no. 26, pp. 2105–2111. doi: 10.1038/sj.gt.3302133
82. Ward P., Walsh Ch.E. Targeted integration of a rAAV vector into the AAVS1 region. *Virology*, 2012, vol. 433, pp. 356–366.
83. Xu Z., Cheng W., Li B., Li J., Lan B., Duan Zh. Development of a real-time PCR assay for detecting and quantifying Human bocavirus 2. *J. Clin. Microbiol.*, 2011, vol. 49, no. 4, pp. 1537–1541. doi: 10.1128/JCM.00196-10
84. Yahiro T., Wangchuk S., Tshering K., Bandhari P., Zangmo S., Dorji T., Tshering K., Matsumoto T., Nishizono A., Söderlund-Venermo M., Ahmed K. Novel human bocavirus genotype 3 in children with severe diarrhea, Bhutan. *Emerg. Infect. Dis.*, 2014, vol. 20, no. 6, pp. 1037–1039. doi: 10.3201/eid2006.131430
85. Young S.M. Jr, McCarty D.M., Degtyareva N., Samulski R.J. Roles of adeno-associated virus Rep protein and human chromosome 19 in site-specific recombination. *J. Virol.*, 2000, vol. 74, pp. 3953–3966.
86. Yu X., Wang J., Zhao B., Ghildyal R. PARV4 co-infection is associated with disease progression in HBV patients in Shanghai. *J. Med. Diagn. Meth.*, 2015, vol. 4, pp. 168. doi: 10.4172/2168-9784.1000168
87. Zhang Z., Zheng Z., Luo H., Meng J., Li H., Li Q., Zhang X., Ke X., Bai B., Mao P., Hu Q., Wang H. Human Bocavirus NP1 Inhibits IFN- β production by blocking association of IFN regulatory factor 3 with IFN β promoter. *J. Immunol.*, 2012, vol. 189, pp. 1–10. doi: 10.4049/jimmunol.1200096
88. Zhou Zh., Gao X., Wang Y., Zhou H., Wu Ch., Paranhos-Baccalà G. Conserved B-cell epitopes among Human bocavirus species indicate potential diagnostic targets. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 1: e86960. doi: 10.1371/journal.pone.0086960

Авторы:

Антипова А.Ю., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Лаврентьева И.Н., д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Antipova A.Yu., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Lavrentieva I.N., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 11.09.2016
Отправлена на доработку 21.11.2016
Принята к печати 16.01.2017

Received 11.09.2016
Revision received 21.11.2016
Accepted 16.01.2017

РОЛЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ИНИЦИАЦИИ И ТЕЧЕНИИ УГРЕВОЙ БОЛЕЗНИ: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД

А.В. Кормилицына¹, Н.М. Калинина²

¹ Центр эстетической косметологии «Сидней», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Публикация представляет собой обзор современной научно-медицинской литературы, посвященный изучению механизмов иммунопатогенеза угревой болезни. Представления о патофизиологии и иммунопатогенезе акне за последние годы существенно расширились, многие ученые отмечают связь между наличием угревой болезни и патологией эндокринной, нервной, пищеварительной и иммунной систем. Несмотря на то, что отдельные звенья патогенеза акне изучены достаточно хорошо, остаются вопросы относительно роли комменсала *Propionibacterium acnes* в инициации и развитии угревой болезни. До настоящего времени нет сведений о количестве *P. acnes* в здоровой и пораженной коже, о связи между количеством *P. acnes* и тяжестью заболевания, также без ответа остается важный вопрос — почему *P. acnes* вызывают воспаление у одних лиц, а у других — нет? Несмотря на присутствие в патогенезе угревой болезни бактериального фактора, есть большое количество исследований, показывающих, что характер иммунного ответа пациента на *P. acnes* более важен, нежели инфекционный агент. Уже достаточно давно получены данные о том, что провоспалительные цитокины играют важную роль в инициации акне. IL-6 и IL-8 участвуют в стимуляции гиперсекреции кожного сала, а субпопуляции Th1, полученные от пациента с акне, распознают антигены *P. acnes*. Целый ряд недавно полученных результатов говорят о том, что *P. acnes* является мощным индуктором Th17 и Th1, а исследование роли провоспалительных цитокинов в развитии угрей предполагает новые возможности терапии акне. Представленный в данной статье клинический случай ярко иллюстрирует участие иммунного воспаления при угревой болезни. Освещены перспективные направления исследований роли сигнальных молекул в патогенезе акне: механизм воздействия оксида азота на секрецию IL-1 β , который был выделен в качестве доминирующего этиологического фактора при вульгарных угрях, а также попытка установить связь между концентрацией нейропептида субстанции P в сыворотке крови и интенсивностью психологического стресса у пациентов с акне в сравнении с этими показателями у здоровых лиц. Из представленного обзора литературы видно, что сам иммунопатогенез акне, а также его связь с нарушениями нервной, эндокринной и пищеварительной систем являются предметом интенсивного изучения как дерматологов, так и клинических иммунологов, к которым обращаются пациенты с угревой болезнью.

Ключевые слова: угревая болезнь, иммунопатогенез акне, провоспалительные цитокины, интерлейкины, субпопуляция Th1, клинический случай.

Адрес для переписки:

Кормилицына Александра Викторовна
191167, Россия, Санкт-Петербург, ул. Исполкомская, 9–11,
Центр эстетической косметологии «Сидней».
Тел.: 8 921 984-86-04 (моб.).
E-mail: avkormi@mail.ru

Contacts:

Aleksandra V. Kormilitsyna
191167, Russian Federation, St. Petersburg, Ispolkomsкая str., 9-11,
The Centre of Aesthetic Cosmetology "Sydney".
Phone: +7 921 984-86-04 (mobile).
E-mail: avkormi@mail.ru

Библиографическое описание:

Кормилицына А.В., Калинина Н.М. Роль провоспалительных цитокинов в инициации и течении угревой болезни: современный взгляд // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 21–26. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-21-26

Citation:

Kormilitsyna A.V., Kalinina N.M. The role of inflammatory cytokines in the initiation and course of acne: a modern view // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 21–26. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-21-26

© Кормилицына А.В., Калинина Н.М., 2017

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2017-1-21-26>

THE ROLE OF INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE INITIATION AND COURSE OF ACNE: A MODERN VIEW

Kormilitsyna A.V.^a, Kalinina N.M.^b

^a Center of Aesthetic Cosmetology "Sydney", St. Petersburg, Russian Federation

^b The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The publication provides an overview of current scientific and medical literature devoted to the study of mechanisms of immunopathogenesis of acne. The concept of the pathophysiology and immunopathogenesis of acne expanded significantly in recent years, many scientists have pointed out the link between the presence of acne and disorders of the endocrine, nervous, digestive and immune systems. Despite the fact that the individual links in the pathogenesis of acne are well studied, there are still questions about the role of commensal *Propionibacterium acnes* in the initiation and development of acne. So far there is no information on the number of *P. acnes* in healthy and diseased skin, the relationship between the number of *P. acnes* and severity of the disease, also an important question remains unanswered — why do *P. acnes* cause inflammation for some people, while it don't for the others? Despite the presence of bacterial factor in the pathogenesis of acne, there are a large number of studies showing that the nature of the patient's immune response to *P. acnes* is more important than the infectious agent. For quite a long time data was received that proinflammatory cytokines play an important role in the initiation of acne. Interleukins IL-6 and IL-8 are involved in the stimulation of sebum hypersecretion, and subpopulation Th1 derived from a patient with acne, recognize *P. acnes* antigens. A number of recently obtained results suggest that *P. acnes* is a potent inducer of Th17 and Th1, and the study of the role of proinflammatory cytokines in the development of acne suggests new possibilities of acne therapy. Presented in this article is a clinical case clearly illustrates the part of the immune inflammation in acne. Prospective areas of research on the role of signaling molecules in the pathogenesis of acne are covered: such as the mechanism of action of nitric oxide on the secretion of interleukin IL-1 beta, which was shown as a dominant etiological factor in acne vulgaris, as well as an attempt to establish a link between the concentration of the neuropeptide substance P in the serum and the intensity psychological stress in the patients with acne in comparison with those in healthy persons. From the presented literature review it is shown that the immunopathogenesis of acne itself, as well as its connection with disturbances of the nervous, endocrine and digestive systems are the subject of intensive study of both dermatologists and clinical immunologists, who are inquired by patients with acne.

Key words: acne, immunopathogenesis of acne, proinflammatory cytokines, interleukines, subpopulation Th1, clinical case.

Угри (угревая болезнь или акне) — наиболее распространенное заболевание кожи у подростков и лиц молодого возраста. Эпидемиологические исследования показали, что в индустриально развитых странах угрями страдают от 50 до 95% подростков. Если исключить легкие формы, то частота встречаемости заболевания все равно остается 25–30% в этой когорте пациентов [2]. В последнее время возросла частота встречаемости акне у взрослых, причем у женщин заболевание выявляется чаще, чем у мужчин: у 50% женщин и только у 25% мужчин акне возникали уже после окончания пубертатного периода [7].

Угревая болезнь — это хроническое рецидивирующее заболевание кожи, являющееся результатом гиперпродукции кожного сала и закупорки гиперплазированных сальных желез с последующим их воспалением [25]. По данным ряда авторов угревая болезнь причиняет душевные страдания больным, вызывает депрессию, межличностные проблемы [1]. Несмотря на прорыв в лечении акне, проблема совершенствования методов лечения, а также дальнейшее изучение причин возникновения и развития болезни остаются актуальными.

Среди причин развития акне обычно отмечают гормональный дисбаланс, генетическая особенность сально-волосяного аппарата (включая активность 5-альфа-редуктазы, количество нейромедиаторных нервных окончаний и рецепторов дигидротестостерона на поверхности сальной железы), иммунологические нарушения, дисбиоз кожи и колонизация *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*), нарушения барьерных свойств эпидермиса [35]. При различных ведущих механизмах развития акне у разных пациентов изменения в сальной железе однотипные: гиперсеборея, фолликулярный и ретенционный гиперкератоз, воспаление. Таким образом, нарушение функции сальных желез и продукции кожного сала являются неизменным этиопатогенетическими факторами при этом заболевании [3].

Согласно современной концепции патогенеза акне, высокий уровень салоотделения является причиной низкого содержания линолевой кислоты в эфирах себума в результате разбавления, что приводит к дефициту линолевой кислоты в фолликулярном эпителии и гиперкератозу с образованием комедонов [22]. В настоящее время активно изучается качественный

состав себума и характерные для акне нарушения. Данные этих исследований пока не нашли практического применения в терапии акне [3].

Многие механизмы патогенеза акне еще не ясны, хотя отдельные звенья изучены достаточно хорошо. Отмечается связь продукции кожного сала с численностью *P. acnes*, однако не установлена связь между количеством *P. acnes* и степенью тяжести заболевания, также нет сведений о различиях в количестве *P. acnes* в здоровой и пораженной коже [29, 30, 31, 32, 33, 34]. Также остается без ответа вопрос: почему у одних людей *P. acnes* вызывают воспаление, а у других — нет? Зависит ли наличие акне от бактериального фактора или оно связано с иммунным ответом пациента на *P. acnes*? Несмотря на присутствие в патогенезе угревой болезни бактериального фактора, есть большое количество исследований, показывающих, что характер иммунного ответа пациента на *P. acnes* более важен, нежели инфекционный агент. Из чего следует, что роль иммунной системы в патогенезе угрей заслуживает пристального изучения [18, 24, 26].

Накапливаются сообщения о роли иммунных изменений в патогенезе акне. Уже в начале XXI в. появились исследования, в которых ученые получили данные о том, что провоспалительные цитокины играют важную роль в инициации появления акне, а IL-6 и IL-8 участвуют в стимуляции гиперсекреции себума [18, 40]. Тогда же в результате исследования иммунного ответа у больных угревой болезнью было выявлено, что субпопуляции Th1, выделенных от пациентов с ранними воспалительными проявлениями акне, не получавших ранее лечения, распознают антигены *P. acnes* [19, 34].

Нет достоверных сведений о роли иммунного ответа на воздействие *P. acnes*. Представляются аргументированные доводы в пользу связи иммунодефицитных состояний с активизацией *P. acnes*. При длительно текущем процессе отмечают повышение уровня общего иммуноглобулина Е, свидетельствующее о наличии аллергической составляющей иммунного ответа при угревой болезни [15, 20].

Масштабное исследование в области изучения особенностей иммунного ответа пациентов с угревой болезнью выполнили европейские ученые в 2013 г. Выявили активацию врожденного и приобретенного иммунитета у пациентов с клиническими проявлениями воспалительных элементов акне. У двух независимых групп пациентов из Финляндии и Германии исследовался биопсийный материал из пораженной и непораженной кожи. Ученые выявили значительное повышение провоспалительных цитокинов, продуцируемых субпопуляцией Т-хелперов 17 (Th17) в пораженной коже. Результаты

исследования демонстрируют наличие IL-17A позитивных Т-клеток и активацию выброса цитокинов субпопуляции Th17, что, возможно, свидетельствует о ключевой роли провоспалительных цитокинов клеток данной субпопуляции в патогенезе акне и предполагает новые возможности терапии угревой болезни [27].

Данные, полученные в более поздних исследованиях, позволили авторам предположить, что угревая болезнь может быть Th17-опосредованным заболеванием. Результаты научных изысканий говорят о том, что *P. acnes* является мощным индуктором Th17 и Th1. А в зоне угревого поражения кожи в дополнение к обнаруженным IL-17A, Th1 и Th17-эффекторным цитокинам заметно повышено количество хемокиновых рецепторов и факторов транскрипции. Кроме того, авторы обнаружили *in vitro*, что помимо Th17, *P. acnes* может вызывать смешанный Th17/Th1-ответ путем индукции сопутствующей секреции IL-17A и IFN γ в специфических CD4⁺ Т-клетках. Наконец, исследования продемонстрировали, что *P. acnes*-специфичные Th17 и Th17/Th1-клетки в периферической крови страдающих акне пациентов встречаются с достоверно большей частотой, чем у здоровых людей. Все это позволило авторам идентифицировать *P. acnes*-реагирующие клетки Th17/Th1 как ранее не описанную CD4⁺ субпопуляцию, участвующую в воспалительном процессе при акне [17, 28].

Участие иммунной системы и иммунного воспаления в патогенезе угревой болезни иллюстрирует представленный клинический случай. Пациентка К., 46 лет. Диагноз: Угри взрослых. Высыпания локализованы преимущественно в области подбородка и шеи, что типично для данной возрастной категории. Пациентка обследована, патологий эндокринной, мочеполовой систем и желудочно-кишечного тракта не выявлено. При исследовании периферической крови получены следующие результаты: в клиническом анализе крови чуть изменено процентное соотношение лимфоцитов и нейтрофилов: доля лимфоцитов увеличена, а нейтрофилов снижена. Субпопуляционный состав лимфоцитов нарушен: крайне много TNK-клеток в относительных и абсолютных значениях; снижено число натуральных киллеров; Т-клетки и НК-клетки активированы и большая, чем в норме, доля этих клеток несет маркер HLA-DR. Активирована продукция провоспалительного цитокина — IL-1 β . Продукция IL-10 не изменена. При оценке функциональной активности гранулоцитов выявлено: снижение адгезии этих клеток к стенке сосуда, снижение спонтанной бактерицидности нейтрофилов и числа нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, снижение индекса фагоцитоза и его завер-

шенности. Таким образом, у данной пациентки отмечаются нарушения в характере иммунного воспаления, и в нейтрофильном звене резко нарушена функция нейтрофилов. Полученные данные дают основания продолжать всесторонние исследования иммунного ответа у пациентов с угревой болезнью с перспективой разработки новых направлений терапии акне.

Большой научный интерес вызывает участие сигнальных молекул в патогенезе угревой болезни. Масштабное исследование роли оксида азота было опубликовано в конце 2015 г. Авторы исследовали механизм, посредством которого оксид азота воздействует на секрецию IL-1 β , который в последнее время был выделен в качестве доминирующего этиологического фактора при вульгарных угрях. Полученные в исследовании данные свидетельствуют о том, что оксид азота может эффективно предотвращать воспаление, индуцированное *P. acnes*, ингибируя микробную стимуляцию врожденного иммунного ответа [36].

Рядом исследователей доказана роль высокогормонального стрессового фона, а также низкой стрессоустойчивости в патогенезе акне. В.П. Адашкевич утверждает, что существует прямая корреляция между стрессовыми ситуациями и количеством высыпаний при угревой болезни. В последнее время в литературе значительное внимание уделяется роли стресса в патогенезе угревой болезни. Из новейших исследований в этом направлении вызывает интерес попытка установить взаимосвязь между концентрацией нейропептида субстанции Р (вещества Р) в сыворотке крови и интенсивностью психологического стресса у пациентов с акне в сравнении с этими показателями у здоровых лиц. Для исследования стресса и методов его преодоления использовались стандартизированные шкалы и опросники, а концентрацию субстанции Р определяли методом иммуноферментного анализа в обеих группах. В результате между тяжестью выраженности акне и концентрацией субстанции Р в сыворотке статистически значимой корреляции не выявили, также не выявили статистически значимых различий между тяжестью акне и интенсивностью стресса. Выводом исследования стало то, что число стрессовых событий не является фактором, определяющим степень тяжести угревой болезни, но, в свою очередь, течение болезни может зависеть от толерантности к стрессу и способности его преодоления [37].

У большинства больных акне имеется генетическая предрасположенность, которая проявляется либо дисфункцией половых желез с гиперпродукцией андрогенов, либо повышенной чувствительностью клеток сальных желез к продуктам обмена тестостерона [13,

21]. Более часто встречаются состояния относительной гиперандрогении при нормальном или сниженном содержании андрогенов в организме [5, 11, 14, 39]. Прием антиандрогенных препаратов в комплексной терапии акне приводит к стойким результатам. При лечении гиперандрогении видимый косметический эффект наступает, в среднем, через 6 месяцев, что явно свидетельствует о существенности этого звена патогенеза [8, 38].

В последние годы появился научный интерес к проблеме поздних акне у взрослых женщин. Это связано с большим количеством накопленных данных по этой проблеме, в 2013 г. даже выработан консенсус (обобщающий документ) под названием «Акне у женщин: новая парадигма» при участии общепризнанных специалистов в этой области [23]. Представления о патофизиологии акне существенно расширились, что позволяет предположить различный патогенез развития угрей у подростков и женщин. В опубликованных работах нет подтверждений различия патогенеза акне у подростков и женщин, но есть клинические данные, указывающие на ряд патогенетических факторов, характерных для акне у женщин. Наследственность, стресс, воздействие ультрафиолетового облучения, ожирение, повышение уровня липопротеина низкой плотности, потребляемая пища — все перечисленные факторы могут оказывать влияние на возникновение и течение угревой болезни. Для подтверждения этого необходимы дальнейшие исследования [16].

Многие ученые отмечают связь между акне и патологией эндокринной, нервной, иммунной и пищеварительной систем органов. Есть исследования, в котором выявлена корреляция между угревой болезнью и *Helicobacter pylori*-ассоциированной патологией ЖКТ.

При нерациональном наружном лечении угревой болезни, длительном применении наружных антибактериальных средств, создаются предпосылки для активации условно-патогенной флоры, в частности, грибов рода *Candida* [4]. Грибы рода *Candida* относятся к условно-патогенным возбудителям, обнаруживаются на коже, ее придатках, слизистых оболочках полости рта, бронхолегочной системы, пищеварительного тракта, половых органов [12]. Хотя *C. albicans* можно найти на коже, близкой к естественным отверстиям, она не является представителем нормальной микрофлоры гладкой кожи [10]. Есть исследования, изучающие возможную роль условно-патогенных микроорганизмов, таких как грибы рода *Candida*, в развитии и течении акне и демонстрирующие взаимосвязь между повышенной колонизацией кожи грибами рода *Candida* и ухудшением течения угревой болезни.

Как видно из представленного обзора литературы, иммунопатогенез угревой болезни, его связь с нарушениями нервной, эндокринной и пищеварительной систем являются предме-

том интенсивного изучения как дерматологов с одной стороны, так и клинических иммунологов, к которым обращаются за помощью эти пациенты.

Список литературы/References

1. Адаскевич В.П. Акне вульгарные и розовые. М.: Медицинская книга, 2005. 160 с. [Adaskevich V.P. Akne vul'garnye i rozovye [Acne vulgaris and rosacea]. Moscow: Meditsinskaya kniga, 2005. 160 p.]
2. Альбанова В.И., Забненкова О.В. L70. Угри: учебное пособие для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 240 с. [Albanova V.I., Zabnenkova O.V. L70. Ugri: uchebnoe posobie dlya vrachei [L70. Acne: a manual for physicians]. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 240 p.]
3. Беловол А.Н., Ткаченко С.Г., Кондрашова В.Б., Береговая А.А. Девиации жирового обмена при угревой болезни // Дерматология та венерология. 2011. № 3 (53). С. 7–11 [Belovol A.N., Tkachenko S.G., Kondrashova V.B., Beregovaya A.A. Deviations of lipidic metabolism in acne disease. *Dermatologiya i venerologiya = Dermatology and Venereology*, 2011, no. 3 (53), pp. 7–11. (In Russ.)]
4. Бурова С.А., Воинова Г.В. Клинические разновидности и лечение кандидоза // Вестник дерматологии. 1997. № 4. С. 24–28. [Burova S.A., Voinova G.V. Clinical variants and treatment of candidiasis. *Vestnik dermatologii = Herald of Dermatology*, 1997, no. 4, pp. 24–28. (In Russ.)]
5. Гунина Н.В., Масыюкова С.А., Пищулин А.А. Роль половых стероидных гормонов в патогенезе акне // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. 2005. № 5. С. 55–62. [Gunina N.V., Masyukova S.A., Pischulin A.A. Role of sex steroids in the pathogenesis of acne. *Eksperimental'naya i klinicheskaya dermatokosmetologiya = Experimental and clinical dermatocosmetology*, 2005, no. 5, pp. 55–62. (In Russ.)]
6. Гусаков Н.И. Акне. М.: Новый камелот, 2004. 76 с. [Gusakov N.I. Akne [Acne]. Moscow: Noviy Kamelot, 2004. 76 p.]
7. Коротаева Н.Н., Дворянкова Е.В., Корсунская И.М. Комплексная терапия акне у женщин // Эффективная фармакотерапия. Дерматовенерология и дерматокосметология. 2013. № 3. С. 28–31. [Korotayeva N.N., Dvoryankova Ye.V., Korsunskaya I.M. Complex therapy of acne in women. *Effektivnaya farmakoterapiya. Dermatovenerologiya i dermatokosmetologiya = Effective Pharmacotherapy. Dermatology and Dermatocosmetology*, 2013, no. 3, pp. 28–31. (In Russ.)]
8. Кубанова А.А., Бакулев А.Л., Бутарева М.М., Глузмин М.И., Дубенский В.В., Заславский Д.В., Знаменская Л.Ф., Кохан М.М., Кунгуров Н.В., Лесная И.Н., Львов А.Н., Минуллин И.К., Новоселов В.С., Охлопков В.А., Перламутров Ю.Н., Разнатовский К.И., Самцов А.В., Соколовский Е.В. Акне: клинические рекомендации Российского общества дерматовенерологов. 2010. С. 3–7. [Kubanova A.A., Bakulev A.L., Butareva M.M., Gluzmin M.I., Dubenskiy V.V., Zaslavskiy D.V., Znamenskaya L.F., Kohan M.M., Kungurov N.V., Lesnaya I.N., Lvov A.N., Minullin I.K., Novoselov V.S., Ohlopkov V.A., Perlamutrov J.N., Raznatovskiy K.I., Samtsov A.V., Sokolovskiy E.V. Akne: klinicheskie rekomendatsii Rossiiskogo obshchestva dermatovenerologov [Acne: Russian society of dermatovenerologists clinical guidelines]. 2010, pp. 3–7.]
9. Кузнецова И.В. Комплексная терапия андрогензависимых дермопатий у девушек-подростков // Русский медицинский журнал. 2008. Т. 16, № 3. С. 28–30. [Kuznetsova I.V. Complex therapy of androgen dermopathy in adolescent girls. *Russkii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal*, 2008, vol. 16, no. 3, pp. 28–30. (In Russ.)]
10. Лыкова С.Г., Немчанинова О.Б., Петренко О.С., Боровицкая О.Н. Кандидозы: учебное пособие. Новосибирск: Сибмедицат НГМУ, 2008. 64 с. [Lykova S.G., Nemchaninova O.B., Petrenko O.S., Borovitskaya O.N. Kandidozy: uchebnoe posobie [Candidiasis: a tutorial]. Novosibirsk: Sibmedizdat NGMU, 2008, 64 p.]
11. Марченко А.А., Ильина А.М. Гиперандрогения различного генеза как причина акне // Натуральная фармакология и косметология. 2004. № 1. С. 19–22. [Marchenko A.A., Ilyina A.M. Hyperandrogenism of various origins as a cause of acne. *Natural'naya farmakologiya i kosmetologiya = Natural Pharmacology and Cosmetology*, 2004, no. 1, pp. 19–22. (In Russ.)]
12. Нобл У.К. Микробиология кожи человека. М.: Медицина, 1986. 496 с. [Nobl U.K. Mikrobiologiya kozhi cheloveka [Human skin microbiology]. Moscow: Medicina, 1986. 496 p.]
13. Потеекаев Н.Н., Горячкина М.В., Белоусова Т.А. Акне (угревая болезнь): современный взгляд на проблему // Consilium medicum. 2008. № 1. С. 3–6. [Potekaev N.N., Goriachkina M.V., Belousova T.A. Acne: a modern approach to the problem. *Consilium medicum*, 2008, no. 1, pp. 3–6. (In Russ.)]
14. Роговская С.И., Телунц А.В., Савельева И.С. Акне как проявление синдрома гиперандрогении: методы коррекции // Provisorum. 2002. № 8. С. 28–30 [Rogovskaya S.I., Telunts A.V., Savelieva I.S. Acne is a manifestation of hyperandrogenism syndrome: methods of correction. *Provisorum*, 2002, no. 8, pp. 28–30. (In Russ.)]
15. Самцов А.В. Акне и акнеформные дерматозы. М.: ООО «Ютком», 2009. 288 с. [Samtsov A.V. Akne i akneformnye dermatozu [Acne and dermatitis acneformis]. Moscow: Ltd "Utkom", 2009. 288 p.]
16. Самцов А.В. Новое в изучении акне у женщин // Вестник дерматологии и венерологии. 2014. № 1. С. 64–68. [Samtsov A.V. New aspects in studies of acne in women. *Vestnik dermatologii i venerologii = Herald of Dermatology and Venereology*, 2014, no. 1, pp. 64–68. (In Russ.)]
17. Agak G.W., Qin M., Nobe J., Kim M.H., Krutzik S.R., Tristan G.R., Elashoff D., Garban H.J., Kim J. Propionibacterium acnes induces an IL-17 response in acne vulgaris that is regulated vitamin A and vitamin D. *J. Invest. Dermatol.*, 2014, vol. 134, iss. 2, pp. 366–373. doi: 10.1038/jid.2013.334
18. Bos J.D., Zonneveld I., Das P.K., Krieg S.R., Van Der Loos C.M., Kapsenberg M.L. The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocytes subpopulations in normal human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1987, vol. 88, pp. 569–573.

19. Brightbill H.D., Libraty D.H., Krutzik S.R., Yang R.B., Belisle J.T., Bleharski J.R., Maitland M., Norgard M.V., Plevy S.E., Smale S.T., Brennan P.J., Bloom B.R., Godowski P.J., Modlin R.L. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through Toll-like receptors. *Science*, 1999, vol. 285, pp. 732–736.
20. Burkhart C.G., Burkhart C.N. Expanding the microcomedone theory and acne therapeutics: Propionibacterium acnes bio-film procedures biological glue that holds corneocytes together to form plug. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2007, vol. 67, pp. 722–724. doi: 10.1016/j.jaad.2007.05.013
21. Di Landro A., Cazzaniga S., Parazzini F., Ingordo V., Cusano F., Atzori L., Cutri F.T., Musumeci M.L., Zinetti C., Pezzarossa E., Bettoli V., Caproni M., Lo Scocco G., Bonci A., Bencini P., Naldi L.; GISED Acne Study Group. Family history, body mass index, selected dietary factors, menstrual history, and risk of moderate to severe acne in adolescents and young adults. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2012, vol. 67, iss. 6, pp. 1129–1135. doi: 10.1016/j.jaad.2012.02.018
22. Downing D.T., Stewart M.E., Wertz P.W., Colton S.W., Abraham W., Strauss J.S. Skin lipids: an update. *J. Invest. Dermatol.*, 1987, vol. 88 (suppl. 3), pp. 2s–6s.
23. Dreno B., Layton A., Zouboulis C., Lopez-Esteban J.L., Zalewska-Janowska A., Bagatin E., Zampeli V.A., Yutskovskaya Y., Harper J.C. Adult female acne: a new paradigm. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2013, vol. 27, pp. 1063–1070. doi: 10.1111/jdv.12061
24. Holland D.B., Jeremy A.H., Roberts S.G., Seukeran D.C., Layton A.M., Cunliffe W.J. Inflammation in acne scarring: a comparison of the responses in lesions from patients prone and not prone to scar. *Br. J. Dermatol.*, 2004, vol. 150, no. 1, pp. 72–81.
25. Jacyk W.K. Adapalen in the treatment of African patients. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2001, vol. 15, pp. 37–42.
26. Joyce S. CD1d and natural T cells: how their properties jump-start the immune system. *Cell Mol. Life Sci.*, 2001, vol. 58, pp. 442–469. doi: 10.1007/PL00000869
27. Kelh la H.-L., Palatsi R., Fihriquist N., Lehtim ki S., V yrynen J.P., Kallioinen M., Kubin M.E., Greco D., Tasanen K., Ale-nius H., Bertino B., Carvalan I., Mehul B., Deret S., Reiniche P., Martel P., Marty C., Voegel S., Lauerma A. IL-17/Th17 pathway is activated in acne lesions. *PLoS One*, 2014, vol. 9, iss. 8: e105238. doi:10.1371/journal.pone.0105238
28. Kistowska M., Meier B., Proust T., Feldmeyer L., Cozzio A., Kuendig T., Contassot E., French L.E. Propionibacterium acnes promotes Th17 and Th17/Th1 responses in acne patients. *J. Invest. Dermatol.*, 2015, vol. 135, no. 1, pp. 110–118. doi: 10.1038/jid.2014.290
29. Leyden J.J. Therapy for acne vulgaris. *N. Engl. J. Med.*, 1997, vol. 336, pp. 1156–1162.
30. Leyden J.J., Mc Ginley K.J., Mills O.H., Kligman A.M. Propionibacterium levels in patients with and without acne vulgaris. *J. Invest. Dermatol.*, 1975, vol. 65, pp. 382–384.
31. Leyden J.J., Mc Ginley K.J., Vowels B. Propionibacterium acnes colonization in acne and nonacne. *Dermatology*, 1998, vol. 196, pp. 55–58.
32. Mc Ginley K.J., Webster G.F., Ruggieri M.R., Leyden J.J. Regional variations in density of cutaneous propionibacteria: Correlation of Propionibacterium acnes populations with sebaceous secretion. *J. Clin. Microbiol.*, 1980, vol. 12, pp. 672–675.
33. Menendez A., Brett Finlay B. Defensins in the immunology of bacterial infections. *Curr. Opin. Immunol.*, 2007, vol. 19, pp. 385–391. doi: 10.1016/j.coi.2007.06.008
34. Mouser P.E., Baker B.S., Seaton E.D., Chu A.C. Propionibacterium acnes-reactive T helper-1 cells in the skin of patients with acne vulgaris. *J. Invest. Dermatol.*, 2003, vol. 121, pp. 1226–1228. doi: 10.1046/j.1523-1747.2003.12550_6.x
35. Pawin H., Beylot C., Chivot, Faure M., Poli F., Revuz J., Dreno B. Physiopathology of acne vulgaris: recent data, new understanding of the treatments. *Eur. J. Dermatol.*, vol. 14, no. 1, pp. 4–12.
36. Qin M., Landriscina A., Rosen J.M., Wei G., Kao S., Olcott W., Agak G.W., Paz K.B., Bonventre J., Clendaniel A., Harper S., Adler B.L., Krausz A.E., Friedman J.M., Nosanchuk J.D., Kim J., Friedman A.J. Nitric oxide-releasing nanoparticles prevent propionibacterium acnes-induced inflammation by both clearing the organism and inhibiting microbial stimulation of the innate immune response. *J. Invest. Dermatol.*, 2015, vol. 135, no. 11, pp. 2723–2731. doi: 10.1038/jid.2015.277
37. Rokowska-Waluch A., Pawlaczyk M., Cybulski M., Zurawski J., Michalak M., Mojs E. Stressful events and serum concentration of substance P in acne patients. *Ann. Dermatol.*, 2016, vol. 28, no. 4, pp. 464–469. doi: 10.5021/ad.2016.28.4.464
38. Thiboutot D., Chen W. Update and future of hormonal therapy in acne. *Dermatology*, 2003, vol. 206, no. 1, pp. 57–67.
39. Thiboutot D., Gilliland K., Light J., Lookingbill D. Androgen metabolism in sebaceous glands from subjects with and without acne. *Arch. Dermatol.*, 1999, vol. 135, pp. 1041–1045.
40. Zouboulis C.C., Eady A., Philpott M., Goldsmith L.A., Orfanos C., Cunliffe W.C., Rosenfield R. What is the pathogenesis of acne? *Exp. Dermatol.*, 2005, vol. 14, pp. 143–152. doi: 10.1111/j.0906-6705.2005.0285a.x

Авторы:

Кормилицына А.В., главный врач Центра эстетической косметологии «Сидней», Санкт-Петербург, Россия;
Калинина Н.М., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Kormilitsyna A.V., General Medical Manager, Center of Aesthetic Cosmetology “Sydney”, St. Petersburg, Russian Federation;
Kalinina N.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Head Researcher, The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 16.01.2017
 Отправлена на доработку 23.01.2017
 Принята к печати 13.02.2017

Received 16.01.2017
 Revision received 23.01.2017
 Accepted 13.02.2017

РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОЛЕТНЕГО ИЗУЧЕНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К ВИРУСАМ ГРИППА А(Н1N1)pdm09, А(Н3N2) И В У ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ РОССИИ

О.С. Коншина, А.А. Соминина, Е.А. Смородинцева, К.А. Столяров, И.Ю. Никоноров

ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Проведен анализ изменений уровня популяционного иммунитета трудоспособного взрослого населения более 20 городов России, сотрудничающих с Федеральным центром по гриппу, к циркулирующим вирусам гриппа А(Н1N1)pdm09, А(Н3N2) и В в период с 2009 по 2015 гг. К началу пандемии (октябрь 2009 г.) население России было практически серонегативным к вирусу гриппа А(Н1N1)pdm09. После первой волны пандемии средние геометрические титры антител (СГТ АТ) к возбудителю пандемии повысились в 2,6 раза, после второй — в 4,9 раза по сравнению с исходным уровнем (1:5,5), далее наблюдалось последовательное нарастание СГТ АТ после каждого из последующих сезонов активной циркуляции пандемического вируса, достигнув максимума (1:41) к апрелю 2013 г., после очередной эпидемии, вызванной этим вирусом. Доля лиц с защитными титрами антител (ЗТА) к уже начавшему циркулировать вирусу гриппа А(Н1N1)pdm09 в октябре 2009 г. составила 8,2%, к вирусу А(Н3N2) — 58,3%, и к вирусу В — 59,7%. Уровень популяционного иммунитета у взрослых к возбудителям сезонных эпидемий — вирусам гриппа А(Н3N2) и В и в дальнейшем, на протяжении всего наблюдаемого периода, был достоверно выше, чем к вирусу гриппа А(Н1N1)pdm09. Процент лиц с ЗТА к вирусам А(Н3N2) и В в указанный период варьировал для вируса А(Н3N2) в пределах от 58,3 до 75,5%, для вируса гриппа В — от 59,7 до 82,3%. Соответственно, показатели заболеваемости взрослого населения в эпидемии гриппа, вызванные этими возбудителями были ниже, чем в эпидемии, связанные с активной циркуляцией вируса А(Н1N1)pdm09. Полученные данные служат одним из оснований для составления прогнозов развития заболеваемости гриппом в предстоящий эпидемический сезон и соответствующих рекомендаций по защите населения от гриппа.

Ключевые слова: популяционный иммунитет, грипп, вирус гриппа А(Н1N1)pdm09, вирус гриппа А(Н3N2), вирус гриппа В, заболеваемость.

POPULATION IMMUNITY TO INFLUENZA VIRUS A(H1N1)pdm09, A(H3N2) AND B IN THE ADULT POPULATION OF THE RUSSIAN FEDERATION LONG-TERM RESEARCH RESULTS

Konshina O.S., Sominina A.A., Smorodintseva E.A., Stolyarov K.A., Nikonov I.Yu.

Research Institute of Influenza Ministry of Health of the Russian Federation

Abstract. Analysis of changes in the population immunity level in adults for more than 20 Russian cities, collaborating with the Federal Center for Influenza, to circulating influenza viruses A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B in the period from 2009 to 2015 performed. By the beginning of the pandemic (October 2009) the population of Russia was almost se-

Адрес для переписки:

Коншина Ольга Сергеевна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 15/17,
ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ.
Тел.: 8 921 920-18-11 (моб.).
E-mail: olga.konshina@influenza.spb.ru

Contacts:

Olga S. Konshina
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Prof. Popova str., 15/17,
Research Institute of Influenza.
Phone: +7 921 920-18-11 (mobile).
E-mail: olga.konshina@influenza.spb.ru

Библиографическое описание:

Коншина О.С., Соминина А.А., Смородинцева Е.А., Столяров К.А., Никоноров И.Ю. Результаты многолетнего изучения популяционного иммунитета к вирусам гриппа А(Н1N1)pdm09, А(Н3N2) и В у взрослого населения России // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 27–33. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-27-33

Citation:

Konshina O.S., Sominina A.A., Smorodintseva E.A., Stolyarov K.A., Nikonov I.Yu. Results of long-term research of population immunity to influenza virus A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B in the adult population of the Russian Federation // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 27–33. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-27-33

ronegative to influenza A(H1N1)pdm09 virus. After the pandemic first wave mean geometric titers (GMT)s of antibodies to the pandemic virus increased by 2.6 times, after the second one by 4.9 times in comparison with initial GMT (1:5.5). A consistent increase in GMTs antibody after each of the subsequent seasons of active circulation of pandemic virus was observed reaching the maximum (1:41) by April 2013, after the next epidemic caused by this virus. The proportion of people with protective antibody titers in October 2009 to already started circulating influenza A(H1N1)pdm09 virus was 8.2%, to influenza A(H3N2) virus — 58.3%, and influenza B virus — 59.7%. Level of population immunity in adults to seasonal influenza A(H3N2) and B viruses throughout the observed period was significantly higher than to influenza virus A(H1N1)pdm09. The percentage of persons with protective antibody titers during the observed period varied for virus A(H3N2) in the range from 58.3 to 75.5%, for influenza B virus — from 59.7 to 82.3%. Accordingly, incidence rate for ILI and ARI in adult groups the population during influenza epidemic caused by these pathogens was lower than in the epidemics, associated with active circulation of influenza A(H1N1)pdm09 virus. The data obtained can be used in influenza forecasting for the upcoming season regarding the etiology and the expected epidemic intensity need for the relevant preventing measures development to decrease the burden from influenza.

Key words: *population immunity, influenza, virus A(H1N1)pdm09, virus A(H3N2), B virus, morbidity.*

Введение

Несмотря на явные успехи в области глобального надзора за гриппом, достижения в области специфической профилактики и терапии данной инфекции, грипп по-прежнему остается наиболее массовым инфекционным заболеванием человечества [1].

Ему, как и ранее, присуща способность к быстрому глобальному распространению с поочередным вовлечением в эпидемический процесс стран Северного и Южного полушария.

Важным регуляторным фактором сезонных эпидемий (помимо антигенной изменчивости возбудителей) считается популяционный иммунитет населения (ПИН), которому в последние годы уделяется незаслуженно мало внимания. Не ясно, в частности, как изменяется ПИН по прошествии эпидемий/пандемий, способен ли он влиять на этиологию и интенсивность предстоящих сезонных эпидемий.

Вирус гриппа типа А является уникальным инфекционным агентом, так как способен быстро изменять антигенную структуру и такие важные биологические свойства, как способность к трансмиссии и патогенность. Это может приводить к тому, что ПИН, приобретенный в ответ на заражение предшествующим штаммом вируса, очень слабо либо совсем не защищает от нового варианта вируса, как это наблюдается, в частности, в период пандемий [5].

Исходя из этого, целью настоящей работы был анализ изменений уровня популяционного иммунитета трудоспособного взрослого населения городов России к циркулирующим вирусам гриппа А(H1N1)pdm09, А(H3N2) и В в период с 2009 по 2015 гг.

Задачами исследования являлись: определение уровня популяционного иммунитета к вирусам гриппа А(H1N1)pdm09, А(H3N2) и В в пред- и постэпидемический периоды в городах России по материалам исследований сы-

вороток крови здоровых доноров в Опорных базах (ОБ) Федерального центра по гриппу; установление корреляций между показателями заболеваемости и смертности от гриппа и уровнем популяционного иммунитета в отдельных городах России.

Материалы и методы

Надзор за состоянием популяционного иммунитета является одной из составляющих традиционного надзора за гриппом, регламентированного приказом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 31.03.2005 № 73 «О совершенствовании системы надзора и контроля за гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями» [6]. Этот раздел работ выполняется сетью ОБ Федерального центра по гриппу, присылающих протоколы исследований донорских сывороток в Лабораторный совет ФЦГ при ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России. Каждая ОБ проводит исследование 100 сывороток в начале сезона (октябрь) и по окончании эпидемии (апрель следующего года). Для каждого сезона проведены расчеты средних геометрических титров антител (СГТ), определен процент лиц с защитными титрами антител (ЗТА) по отдельным городам, федеральным округам и Российской Федерации в целом. Проведено определение корреляций показателей иммунитета с данными заболеваемости гриппом и ОРВИ, а также смертности от лабораторно подтвержденного гриппа в рассматриваемый период.

Лабораторное исследование на наличие антител в сыворотках крови здоровых доноров к вирусам гриппа А(H1N1)pdm09, А(H3N2) и В в опорных базах проводили в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием стандартизованных препаратов гриппозных антигенов (производства ООО «Пред-

приятие по производству диагностических препаратов», Санкт-Петербург). Постановку РТГА проводили по стандартному протоколу (Методические указания МУ 3.3.2.1758-03 от 28.09.2003) [4]. Защитными титрами антител считали значения титров в РТГА, равные 1:32 и выше.

При анализе полученных результатов определяли средние величины СГТ и процент лиц с ЗТА по всем городам, представившим данные, а также рассчитывали стандартное отклонение и доверительные интервалы. Оценку статистической достоверности различий проводили при помощи компьютерной программы GraphPad Prism (версия 6.0) с использованием непараметрических критериев Манна–Уитни, Вилкоксона. Различия считали достоверными при значениях $p < 0,05$.

Результаты

Для анализа популяционного иммунитета использованы данные исследования сывороток крови здоровых доноров возрастной группы от 18 до 60 лет. В октябре 2009 г. (перед началом пандемии) были представлены данные по 23 городам, с апреля 2010 г. по октябрь 2015 г. — по 24–36 городам РФ. Всего за период с 2009 по 2015 гг. были проанализированы данные исследования 49 070 сывороток доноров.

В результате проведенных исследований установлено, что в самом начале пандемии большая часть населения не имела иммунной защиты от вновь появившегося пандемического вируса гриппа: в октябре 2009 г. удельный вес серонегативных лиц к вирусу гриппа A(H1N1)pdm09 у населения 23 городов варьировал от 90 до 95%, лишь в 2 городах было зарегистрировано большее число серопозитивных лиц: в Кемерово — 12% и в Архангельске — 16%, что отчасти могло свидетельствовать о начале циркуляции нового возбудителя на этих территориях. В среднем по городам доля лиц с ЗТА к уже начавшему циркулировать вирусу гриппа A(H1N1)pdm09 составила в октябре 2009 г. 8,2%, к вирусу A(H3N2) — 58,3% и к В — 59,7%.

По прошествии первой волны пандемии (в апреле 2010 г.) доля лиц с ЗТА к вирусу гриппа A(H1N1)pdm09 увеличилась в 4 раза (до 33,1%), тогда как к вирусам гриппа A(H3N2) и В она существенно не изменилась. После второй волны пандемии в апреле 2011 г. процент лиц с ЗТА к пандемическому вирусу увеличился до 50,5%, достигнув максимума (63,7%) к апрелю 2013 г. в результате периодической активизации циркуляции возбудителя (табл.).

Значительное увеличение процента лиц с ЗТА в эпидемические сезоны 2009–2010 и 2010–2011 гг. был обусловлен доминированием в попу-

Таблица. Процент лиц с защитным титром к вирусам гриппа A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и В в Российской Федерации в период с 2009 по 2015 гг.
Table. Proportion of people with protective antibody titers (AT) to viruses A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B in the Russian Federation from 2009 to 2015

| Вирус и показатели Influenza virus and criteria | Количество исследованных сывороток (всего)/Quantity of sera (total) | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--|--|
| | 10.2009 | 04.2010 | 10.2010 | 04.2011 | 10.2011 | 04.2012 | 10.2012 | 04.2013 | 10.2013 | 04.2014 | 10.2014 | 04.2015 | 10.2015 | | |
| A(H1N1)pdm09 | 2300 | 3604 | 2400 | 3590 | 3610 | 3453 | 3612 | 3000 | 3400 | 2797 | 3605 | 2801 | 2898 | | |
| Процент лиц с ЗТА (М) Proportion people with protective AT | 188 | 1192 | 853 | 1814 | 1836 | 1701 | 1832 | 1911 | 2008 | 1750 | 2052 | 1539 | 1775 | | |
| DI 95%/CI 95% | 7,1–9,3 | 31,6–34,6 | 33,7–37,5 | 48,9–52,2 | 49,2–52,5 | 47,6–50,9 | 49,1–52,3 | 62,0–65,4 | 57,4–60,7 | 60,7–64,4 | 55,3–58,5 | 53,1–56,8 | 59,5–63,0 | | |
| A(H3N2) | 1342 | 2375 | 1696 | 2328 | 2107 | 2311 | 2309 | 2016 | 2178 | 2010 | 2645 | 2031 | 2188 | | |
| Процент лиц с ЗТА (М) Proportion people with protective AT | 58,3 | 65,9 | 70,7 | 64,8 | 58,4 | 66,9 | 63,9 | 67,2 | 64,1 | 71,9 | 73,4 | 72,5 | 75,5 | | |
| DI 95%/CI 95% | 56,3–60,3 | 64,3–67,4 | 68,8–72,5 | 63,3–66,4 | 56,7–60,0 | 65,3–68,5 | 62,3–65,5 | 65,5–68,9 | 62,4–65,7 | 70,2–73,5 | 71,9–74,8 | 70,8–74,1 | 73,9–77,0 | | |
| В | 1372 | 2183 | 1766 | 2494 | 2613 | 2570 | 2708 | 2429 | 2706 | 2206 | 2810 | 2305 | 2356 | | |
| Процент лиц с ЗТА (М) Proportion people with protective AT | 59,7 | 60,6 | 73,6 | 69,5 | 72,4 | 74,4 | 75 | 81 | 79,6 | 78,9 | 77,9 | 82,3 | 81,3 | | |
| DI 95%/CI 95% | 57,6–61,6 | 59,0–62,1 | 71,8–75,3 | 67,9–71,0 | 70,9–73,8 | 72,9–75,9 | 73,5–76,3 | 79,5–82,3 | 78,2–80,9 | 77,3–80,3 | 76,6–79,3 | 80,8–83,7 | 79,8–82,7 | | |

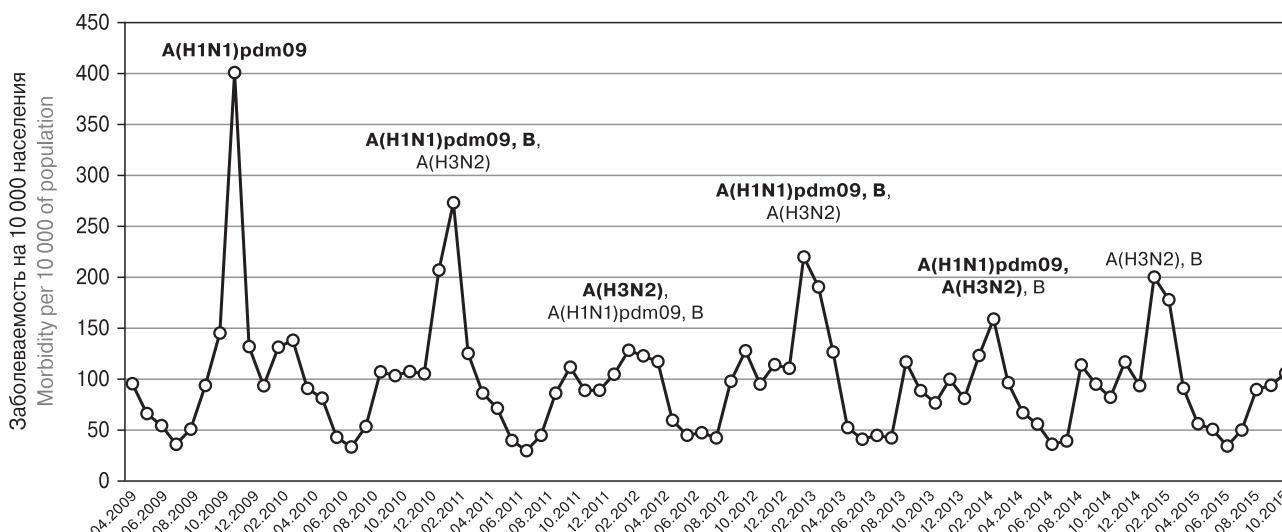


Рисунок 1. Заболеваемость гриппом и ОРВИ в возрастной группе от 18 лет и старше в Российской Федерации за период с апреля 2009 г. по ноябрь 2015 г.

Figure 1. Influenza and acute respiratory viral infections morbidity of population aged 18 years and older in the Russian Federation for the period from April 2009 to November 2015

Примечание. Доминирующие агенты выделены жирным шрифтом.
Note. Dominating agents marked in bold.

ляции циркулирующих штаммов вируса гриппа A(H1N1)pdm09, который вызвал сильнейшие подъемы заболеваемости гриппом и ОРВИ среди взрослого населения РФ до 398,7 и 272,6 случаев на 10 000 населения в неделю на пике эпидемии соответственно (рис. 1).

По мере циркуляции возбудителя наблюдалось последовательное увеличение СГТ АТ к вирусу A(H1N1)pdm09 с 1:5,5 в октябре 2009 г. до 1:15,3 в октябре 2010 г. и 1:27 в апреле 2011 г., достигнув максимума после очередной эпидемии, вызванной преимущественно этим вирусом, в апреле 2013 г. — 1:41,9 (рис. 2).

Процент лиц с ЗТА к вирусам A(H3N2) и B в указанный период был намного выше и варьировал для вируса A(H3N2) в пределах от 58,3 до 75,5%, для вируса гриппа B — от 59,7 до 82,3% (см. табл.).

Таким образом, на примере первых двух пандемических волн, вызванных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09, показано закономерное увеличение СГТ антител и процента лиц с ЗТА к этому возбудителю как отражение его циркуляции в человеческой популяции, которое не достигло, однако, уровня, свойственного сезонным возбудителям гриппозных эпидемий — вирусам гриппа A(H3N2) и B.

Прослежены корреляции уровня заболеваемости, ее этиологии и изменений в популяционном иммунитете в последующие постпандемические годы.

В октябре 2011 г., по прошествии первых пандемических волн, процент лиц с ЗТА к вирусу

A(H1N1)pdm09 достиг 50,9%. Развившаяся зимой 2012 г. эпидемия была вызвана, в основном, вирусом гриппа A(H3N2). Реже регистрировали случаи гриппа B. Заболеваемость на пике эпидемии в сезон 2011–2012 гг. была значительно ниже, чем в период 2009–2010 гг. (130,9 случаев на 10 000 человек). По прошествии эпидемии процент лиц с ЗТА к доминирующему вирусу гриппа A(H3N2) существенно увеличился (с 58,4 до 66,9%), мало изменившись в отношении двух других возбудителей (см. табл. 1).

В октябре 2012 г. доля лиц, имеющих ЗТА к вирусам A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и B, составила 50,7; 63,9 и 75,0%. В сезон 2012–2013 в России заболеваемость была значительно выше, чем в сезон 2011–2012 (223,8 на 10 000 населения на пике эпидемии). При совместной циркуляции с вирусами A(H3N2) и B преобладал вирус гриппа A(H1N1)pdm09. В результате к апрелю 2013 г. процент лиц с ЗТА увеличился на 13,7; 3,3 и 6,0% соответственно.

Далее в предэпидемический период сезона 2013–2014 гг. процент людей с ЗТА несколько уменьшился (на 1,4–4,6%) по сравнению с апрелем 2013 г. Эпидемия в сезон 2013–2014 в России по интенсивности и продолжительности была сопоставима с эпидемией 2011–2012 гг., заболеваемость ненамного превысила показатели последней (160,1 случаев на 10 000 человек). В циркуляции в сезон 2013–2014 доминировал вирус гриппа A(H3N2), случаи гриппа A(H1N1)pdm09 и B регистрировали значительно реже. По ее прошествии отмечено достоверное увеличение

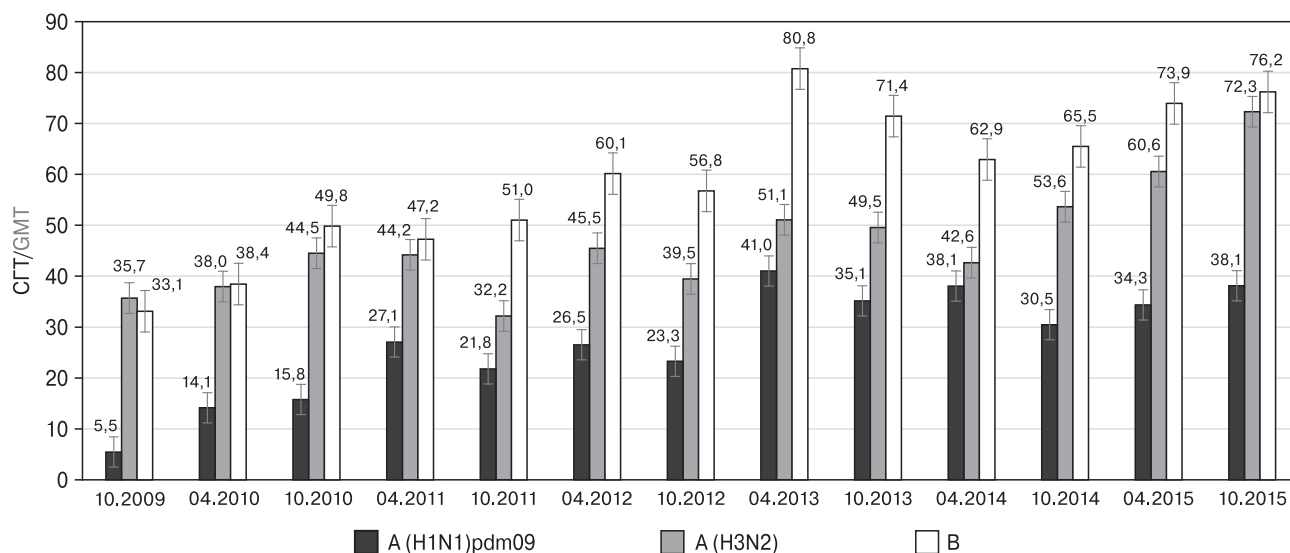


Рисунок 2. Среднегеометрические титры антител у обследованных лиц возрастной группы от 18 до 60 лет в период с октября 2009 по октябрь 2015 гг. на территории Российской Федерации

Figure 2. The geometric mean antibody titers of the screened healthy donors aged 18 to 60 years old for the period from October 2009 to October 2015 in the Russian Federation

прослойки лиц с ЗТА к доминирующему возбудителю — вирусу гриппа А(Н3N2) без отчетливых изменений этого показателя в отношении двух других возбудителей.

В предэпидемический период сезона 2014–2015 гг. процент лиц с ЗТА к вирусам А(Н3N2) и В оставался на достаточно высоком уровне, хотя отмечено снижение этого показателя в отношении вируса А(Н1N1)pdm09. Интенсивность эпидемии 2014–2015 гг. была значительно выше, чем в предыдущий сезон, заболеваемость на пике достигала 201,0 случая на 10 000 человек. В этот сезон на территории России социркулировали вирусы гриппа А(Н3N2) и В с измененной антигенной структурой, грипп регистрировали редко.

Обсуждение

Полученные результаты убедительно свидетельствуют о существовании причинно-следственной связи между уровнем популяционного иммунитета и этиологией эпидемий. Как правило, по их прошествии отчетливо увеличивается уровень антител к доминирующему агенту, следствием чего является как увеличение прослойки лиц с ЗТА, так и в увеличении СГТ АТ к основному возбудителю эпидемии. Наиболее отчетливо это проявилось на примере последней пандемии, вызванной вирусом А(Н1N1)pdm09. Как ранее уже указывалось, пандемия развилась на фоне практически полного отсутствия популяционного иммунитета у населения большинства городов [9], что в значительной мере определило высочайший

уровень заболеваемости и смертности в стране, который регистрировался на протяжении двух последовательных сезонов [2, 3].

Активная циркуляция вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 сопровождалась ростом числа серопозитивных лиц с увеличением прослойки лиц с ЗТА среди взрослых здоровых доноров. Одновременно у них был выявлен последовательный рост СГТ антител к вирусу гриппа А(Н1N1)pdm09 — от 1:5,5 в октябре 2009 г. до 1:14,1 к апрелю 2010 г. и до 1:27,1 в апреле 2011 г. К апрелю 2013 г. они достигли защитного уровня (1:41,0) в результате активной циркуляции вируса А(Н1N1)pdm09 в сезон 2012–2013 гг.

Показатели СГТ АТ к вирусу гриппа А(Н3N2) и В (с октября 2009 по апрель 2015 гг.) изменялись в изучаемый период в пределах от 1:35,7 до 1:60,6 и от 1:33,1 до 1:73,9 соответственно. Наименьшие показатели (1:32,2) были определены для вируса гриппа А(Н3N2) в октябре 2011 г. перед эпидемией, вызванной этим вирусом зимой 2012 г., а для вируса гриппа В наименьший показатель составил 33,1 в октябре 2009 г. с последующим постоянным увеличением этого показателя до значений 1:73,9–1:80,8 в результате непрерывной циркуляции вирусов Ямагатской ветви на протяжении наблюдаемого периода.

Угроза возникновения новых пандемий гриппа ставит перед здравоохранением ряд важных задач, решение которых способно снизить скорость распространения инфекции. Это, в свою очередь, позволит выиграть время, необходимое для наработки вакцин из нового возбудителя, оценки его чувствительности

к противовирусным препаратам и в конечном итоге — снизить заболеваемость и смертность от гриппа. Контроль за состоянием популяционного иммунитета к сезонным и потенциально пандемическим вирусам гриппа является важным звеном надзора и раннего распознавания начала циркуляции нового возбудителя [10]. Сказанное определяет важность продолжения работ в указанном направлении.

Сезонные эпидемии гриппа А того или иного субтипа регистрируют практически ежегодно, а пандемии — с промежутком от 11 лет до 41 года. Вирусы гриппа типа В вызывают эпидемии, при этом наблюдается смена доминирующих линий Викторианской на Ямагатскую и обратно с периодичностью 2–4 года [8].

Важными факторами, определяющими интенсивность и характер развития сезонных эпидемий, является не только изменение биологических и антигенных свойств возбудителя, но и состояние популяционного иммунитета, как следствие естественной циркуляции и вакцинации населения.

В настоящее время в России контроль популяционного иммунитета является составной частью наблюдения за гриппом и осуществляется в лабораториях, сотрудничающих с Федеральным центром по гриппу. Эти исследования были инициированы академиком А.А. Смородинцевым и проводились в НИИ гриппа в течение многих лет, что внесло определенный вклад в понимание факторов регуляции эпидемического процесса [7].

В период начала пандемии (октябрь 2009 г.), вызванной вирусом А(Н1N1)pdm09, взрослое население России было практически серонегативным к вирусу гриппа А(Н1N1)pdm09. После первой волны пандемии СГТ повысились в 2,6 раза, после второй — в 4,9 раза по сравнению с исходным уровнем (1:5,5), далее наблюдалось последовательное нарастание СГТ антител после каждого из последующих сезонов активной циркуляции пандемического вируса.

Уровни популяционного иммунитета у взрослых к возбудителям сезонных эпидемий — вирусам гриппа А(Н3N2) и В — были достоверно выше, чем к вирусу гриппа А(Н1N1)pdm09. Соответственно, показатели заболеваемости взрослого населения в эпидемии гриппа, вызванные этими возбудителями, были ниже, чем в эпидемии, связанные с активной циркуляцией вируса А(Н1N1)pdm09.

Полученные данные служат базой для составления прогнозов развития заболеваемости гриппом в предстоящий эпидемический сезон и соответствующих рекомендаций по защите населения.

В то же время для получения более полной картины популяционного иммунитета при гриппе целесообразно ввести мониторинговые серологические исследования среди вакцинированных против гриппа, а также организовать изучение особенностей иммунитета к циркулирующим вирусам в разных возрастных группах населения и географически отдаленных территориях.

Список литературы/References

1. Бюллетень Всемирной организации здравоохранения. 2012. Вып. 90. № 4. С. 245–320. [Bulletin of the World Health Organization, 2012, vol. 90, no. 4, pp. 245–320.]
2. Грипп: эпидемиология, диагностика, лечение, профилактика. Под ред. О.И. Киселева, Л.М. Цыбаловой, В.И. Покровского. М.: Издательство «Медицинское информационное агентство», 2012. 496 с. [Gripp: epidemiologiya, diagnostika, lechenie, profilaktika. Pod red. O.I. Kiseleva, L.M. Tsybalovoi, V.I. Pokrovskogo [Influenza: epidemiology, diagnosis, treatment, prevention. Eds. Kiselev O.I., Tsybalova L.M., Pokrovsky V.I.]. Moscow: Publishing House "Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo", 2012. 496 p.]
3. Карпова Л.С., Бурцева Е.И., Поповцева Н.М., Столярова Т.П. Сравнение эпидемий гриппа в России 2009 и 2011 годов, вызванных пандемическим вирусом гриппа А(Н1N1) // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. № 5 (60). С. 6–15. [Karpova L.S., Burtseva E.I., Popovtseva N.M., Stolyarova T.P. Comparison of influenza epidemics in Russia 2009 and 2011, caused by pandemic influenza A(H1N1). *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2011, no. 5 (60), pp. 6–15 (In Russ.)]
4. Карпова Л.С., Соминина А.А., Бурцева Е.И., Пелих М.Ю., Феодоритова Е.Л., Поповцева Н.М., Столярова Т.П., Киселев О.И. Сравнение эпидемий гриппа в России, вызванных пандемическим вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09, в период с 2009 по 2013 г. // Вопросы вирусологии. 2015. Т. 60, № 3. С. 19–24. [Karpova L.S., Somnina A.A., Burtseva E.I., Pelikh M.Yu., Feodoritova E.L., Popovtseva N.M., Stolyarova T.P., Kiselev O.I. Comparison of the influenza epidemics in Russia caused by the pandemic virus A(H1N1)pdm09 within the period from 2009 to 2013. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2015, vol. 60, iss. 3, pp. 19–24 (In Russ.)]
5. Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа: Методические указания МУ 3.3.2.1758-03 (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 28 сентября 2003 г.) [Methods for determination of parameters of quality of immunobiological drugs for the prevention and diagnosis of influenza: Guidelines MU 3.3.2.1758-03 (app. Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on September 28, 2003)]
6. О совершенствовании системы эпидемиологического надзора и контроля за гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями: Приказ Роспотребнадзора от 31.03.2005 № 373. [On the improvement of system of influenza surveillance and control, and acute respiratory viral infections: Rosпотребнадзор Order 31.03.2005 No. 373.]

7. Смородинцев А.А. Грипп и его профилактика: руководство для врачей. Л.: Медицина, 1984. С. 164–196. [Smorodintsev A.A. Gripp i ego profilaktika: rukovodstvo dlya vrachei [Influenza and its prevention: a guide for physicians]. *Leningrad: Medicina, 1984, pp. 164–196.*]
8. Ambrose C.S., Levin M.J. The rationale for quadrivalent influenza vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2012, vol. 8, pp. 81–88. doi: 10.4161/hv.8.1.17623
9. Metcalf C.J.E., Ferrari M., Graham A.L., Grenfell B.T. Understanding herd immunity. *Trends Immunol.*, 2015, vol. 36, no. 12, pp. 753–755. doi: 10.1016/j.it.2015.10.004
10. Somnina A., Burtseva E., Eropkin M., Karpova L., Zarubaev V., Smorodintseva E., Konovalova N., Danilenko D., Prokopetz A., Grudin M., Pisareva M., Anfimov P., Stolyarov K., Kiselev O., Shevchenko E., Ivanova V., Trushakova S., Breslav N., Lvov D., Klimov A., Moen A., Cox N. Influenza surveillance in Russia based on epidemiological and laboratory data for the period from 2005 to 2012. *Am. J. Infect. Dis.*, 2013, vol. 9, no. 3, pp. 77–93. doi: 10.3844/ajidsp.2013.77.93

Авторы:

Коншина О.С., научный сотрудник лаборатории испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Сомнина А.А., д.м.н., профессор, руководитель отдела биотехнологии, зав. лабораторией биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Смородинцева Е.А., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Столяров К.А., ведущий программист отдела информационно-технического обеспечения ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Никоноров И.Ю., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Konshina O.S., Researcher, Laboratory of Trials of Novel Remedies for Antiviral Protection, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Sominina A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Biotechnology Department, Head of the Laboratory of Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Smorodintseva E.A., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Biotechnology of Diagnostic Reagents, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Stolyarov K.A., Leading Software Developer, IT department, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Nikonorov I.Yu., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Trials of Novel Remedies for Antiviral Protection, Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation.

ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *Mycobacterium tuberculosis* (ПО МАТЕРИАЛАМ 15-ЛЕТНЕГО НАБЛЮДЕНИЯ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ)

А.А. Вязовая¹, В.В. Ветров¹, Л.В. Лялина¹, И.В. Мокроусов¹, Н.С. Соловьева²,
В.Ю. Журавлев², Б.И. Вишневский², О.В. Нарвская^{1,2}

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург Россия

² ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. В конце 90-х гг. XX в. в России наблюдалось обострение эпидемической ситуации по туберкулезу и «взрывной» рост лекарственной устойчивости возбудителя. В последние годы на фоне снижения заболеваемости туберкулезом легких растет число случаев, вызванных микобактериями с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), что приводит к снижению эффективности лечения. Среди 11 субъектов Северо-Западного федерального округа Ленинградская область лидирует по числу неэффективных курсов химиотерапии у впервые выявленных бактериовыделителей. Особенностью эпидемической ситуации по туберкулезу в Ленинградской области является превалирование (74,1% в 2014 г.) МЛУ штаммов возбудителя у ранее леченных больных туберкулезом легких. Цель исследования — сравнительная генотипическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от больных хроническим туберкулезом легких в Ленинградской области в 1999–2004 и 2010–2014 гг. По результатам сполиготипирования, среди штаммов *M. tuberculosis* ранее леченных больных Ленинградской области преобладали представители генетического семейства Beijing (сполиготипы SIT1 и SIT190), причем их доля возросла с 56,3% (27 из 48) в 1999–2004 гг. до 76,5% (52 из 68) в 2010–2014 гг. Доля штаммов других генотипов — LAM и T — сократилась с 16,7 и 12,5% до 10,3 и 2,9% соответственно. Удельный вес МЛУ в изученных субпопуляциях генотипа Beijing был практически неизменным (88,9 и 86,5%). Среди МЛУ штаммов Beijing в 1999–2004 гг. широкая лекарственная устойчивость (ШЛУ) не встречалась, тогда как в 2010–2014 гг. доля ШЛУ достигла 33,3%. MIRU-VNTR-типирование (12 локусов) 68 штаммов *M. tuberculosis* выявило 20 вариантов профилей, из них пять представлены кластерами MIT1, MIT46, MIT16, MIT17, MIT571, включавшими два и более штамма. Наиболее крупные кластеры MIT16 (223325153533) и MIT17 (223325173533) включали 25 (48,1%) и 21 (40,4%) штамм генотипа Beijing. При этом ранее установлена клиническая значимость и преимущественно эпидемический путь распространения МЛУ штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing, принадлежащих к данным MIRU-VNTR-типам, в ряде регионов России, что требует углубленного анализа ситуации в Ленинградской области.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, множественная лекарственная устойчивость, широкая лекарственная устойчивость, сполиготипирование, генотип Beijing, MIRU-VNTR.

Адрес для переписки:

Вязовая Анна Александровна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера.
Тел.: (812) 233-21-49. Факс: (812) 233-20-92.
E-mail: annavyazovaya@pasteurorg.ru

Contacts:

Anna A. Vyazovaya
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 233-21-49. Fax: +7 (812) 233-20-92.
E-mail: annavyazovaya@pasteurorg.ru

Библиографическое описание:

Вязовая А.А., Ветров В.В., Лялина Л.В., Мокроусов И.В., Соловьева Н.С.,
Журавлев В.Ю., Вишневский Б.И., Нарвская О.В. Характеристика
штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (по материалам 15-летнего
наблюдения в Ленинградской области) // Инфекция и иммунитет. 2017.
Т. 7, № 1. С. 34–40. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-34-40

Citation:

Vyazovaya A.A., Vetrov V.V., Lyalina L.V., Mokrousov I.V., Solovieva N.S.,
Zhuravlev V.Yu., Vishnevskiy B.I., Narvskaya O.V. Characterization
of *Mycobacterium tuberculosis* strains (a 15-year survey in Leningrad Region,
Russia) // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet,
2017, vol. 7, no. 1, pp. 34–40. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-34-40

CHARACTERIZATION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS STRAINS (A 15-YEAR SURVEY IN LENINGRAD REGION, RUSSIA)

Vyazovaya A.A.^a, Vetrov V.V.^a, Lyalina L.V.^a, Mokrousov I.V.^a, Solovieva N.S.^b, Zhuravlev V.Yu.^b, Vishnevskiy B.I.^b, Narvskaya O.V.^{a,b}

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

^b Research Institute of Phthiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. In the late 90-ies of XX century in Russia there was an exacerbation of the epidemic situation of tuberculosis (TB) and “explosive” increase in pathogen drug resistances. Regardless of lower incidence of pulmonary TB in recent years, the number of cases caused by multidrug-resistant (MDR) mycobacteria was increasing due to a reduction in the effectiveness of treatment. Among the 11 subjects of the North-West Federal District the Leningrad Region is leading in the number of ineffective chemotherapy outcomes in newly diagnosed bacteriologically confirmed TB cases. A specific feature of the current epidemic situation in the Leningrad Region is the prevalence (74.1% in 2014) of MDR strains among previously treated patients with pulmonary TB. The aim of the research was a comparative genotypic characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains, isolated from patients with chronic pulmonary tuberculosis in the Leningrad Region in 1999–2004 and 2010–2014. As defined by spoligotyping, the Beijing family genotype was prevailing among *M. tuberculosis* strains of previously treated patients from Leningrad region (76.5% in 2010–2014 versus 56.3% in 1999–2004). The proportion of other genotypes strains — LAM and T decreased from 16.7 and 12.5% to 10.3 and 2.9%, respectively. The proportion of multi-drug resistance in the studied subpopulations of the Beijing genotype strains remained virtually constant (86.5 and 88.9%). The extensive drug resistance was not observed among MDR Beijing strains in 1999–2004, whereas in 2010–2014 it reached 33.3%. MIRU-VNTR-typing (12 loci) of 68 *M. tuberculosis* strains revealed 20 profiles; of these, five were presented by clusters MIT1, MIT46, MIT16, MIT17, MIT571, comprising two or more strains. The largest clusters MIT16 (223325153533) and MIT17 (223325173533) included 25 (48.1%) and 21 (40.4%) apparently highly transmissible Beijing genotype strains. Previously, clinical significance and mainly epidemic pathways for MDR *M. tuberculosis* Beijing strains belonging to these MIRU-VNTR-types were proved in a number of Russian regions. These findings require in-depth analysis of the situation in the region studied.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, multidrug-resistant, extensively drug-resistant, spoligotyping, Beijing genotype, MIRU-VNTR.

Введение

В конце 90-х гг. XX в. в России наблюдалось обострение эпидемической ситуации по туберкулезу и «взрывной» рост лекарственной устойчивости возбудителя [5]. В последние годы на фоне снижения заболеваемости туберкулезом легких растет число случаев, вызванных микобактериями с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), что приводит к снижению эффективности лечения. Среди 11 субъектов Северо-Западного федерального округа (СЗФО) Ленинградская область лидирует по числу неэффективных курсов химиотерапии у впервые выявленных бактериовыделителей [1]. Так, доля впервые выявленных больных туберкулезом легких с МЛУ возбудителя возросла с 26,7% в 2010 г. до 39,7% в 2014 г., а в случае рецидива — с 47,3% в 2010 г. до 74,1% в 2014 г. При этом в 2014 г. аналогичные показатели в Санкт-Петербурге (28,1 и 34,9%) и в России в целом (24,5 и 44,9%) были ниже.

Цель исследования — сравнительная генотипическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных от больных хроническим туберкулезом легких в Ленинградской области в 1999–2004 и 2010–2014 гг.

Материалы и методы

Больные туберкулезом органов дыхания (включая одного ВИЧ-инфицированного) — жители Ленинградской области: 48 мужчин (22–60 лет, средний возраст 33 года) и 20 женщин (17–54 лет, средний возраст 34 года) прошли диагностику, этапы химиотерапии и/или хирургического лечения в 2010–2014 гг. и были направлены в ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России для коррекции режима химиотерапии. Культуры *M. tuberculosis* получены из клинического материала (промывные воды бронхов, мокрота, операционный материал) на среде Левенштейна–Йенсена. Определение лекарственной чувствительности/устойчивости (ЛЧ/ЛУ) изолятов возбудителя к основным противотуберкулезным препаратам (ПТП) осуществляли стандартным непрямом методом абсолютных концентраций и/или с помощью автоматизированной системы ВАСТЕС MGIT 960. При наличии устойчивости к одному препарату из ПТП штаммы *M. tuberculosis* считали монорезистентными, к двум и более — полирезистентными, одновременно устойчивые к рифампицину и изониазиду — мультирезистентными. Широкоую лекарственную устойчивость (ШЛУ)

рассматривали как устойчивость МЛУ штаммов *M. tuberculosis* к фторхинолонам и одному из инъекционных ПТП — канамицину, амикацину или капреомицину (Приказ Минздрава РФ № 951, ред. от 29.10.2014).

Также проведен ретроспективный анализ профилей ЛЧ и генотипов 48 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от ранее леченных больных туберкулезом легких в Ленинградской области в 1999–2004 гг.

Выделение хромосомной ДНК из культур *M. tuberculosis* проводили согласно [14]. Генотипирование штаммов *M. tuberculosis* проводили методами сполиготипирования и MIRU-VNTR-типирования по 12 локусам MIRU (2, 4, 10, 16, 20, 23, 24, 26, 27, 31, 39, 40) [8, 13]. Число повторов в каждом локусе определяло числовой профиль штамма. Принадлежность штамма к определенному сполиготипу, генетическому семейству и MIRU-VNTR-типу (MIT) устанавливали согласно международной базе данных SITVIT_WEB (http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE). Дополнительно принадлежность к генотипу LAM определяли путем выявления специфической мутации GAG→GAA в кодоне 103 гена Ag85C (Rv0129c) методом ПЦР [7]; к генотипу Ural — по характерному профилю сполиготипирования и числу повторов в локусе MIRU26 методом MIRU-VNTR [3, 10].

Степень родства между штаммами оценивали с помощью дендрограммы, построенной на основании полиморфизма локусов MIRU-VNTR с использованием алгоритма невзвешенных парно-групповых средних (UPGMA) (<http://www.miru-vntrplus.org>). Статистическую обработку данных проводили с использованием программ EpiCalc2000, вычисляя χ^2 и отношение шансов (OR). Статистически значимыми считали различия между группами при доверительном интервале 95% ($p < 0,05$).

Результаты

Сполиготипирование 68 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от ранее леченных больных в 2010–2014 гг., позволило выявить 16 сполиготипов шести генетических семейств (табл. 1). Как видно из таблицы 1 большинство штаммов (76,5%) принадлежало к генотипу Beijing, представленному сполиготипами SIT1 ($n = 51$) и SIT190. Доля штаммов генотипов LAM (Latin American Mediterranean), Ural и T с различными сполиготипами составляла 10,3; 5,9 и 2,9% соответственно. Остальные генетические семейства Haarlem и X представлены единичными штаммами.

В изученной выборке штаммов *M. tuberculosis*, МЛУ (в т.ч. ШЛУ) обладали 50 (73,5%), ле-

карственную чувствительность сохранили 11 (16,2%); остальные штаммы проявляли полирезистентность к ПТП (табл. 1). При этом МЛУ (в т.ч. ШЛУ) значительно чаще встречалась у штаммов Beijing (45 из 50; 90%), нежели у штаммов других генотипов — non-Beijing (OR 14,2 [3,76; 53,13], $p < 0,03$). В структуре ЛЧ штаммов преобладали штаммы non-Beijing (8 из 11; 72,7%) (OR = 0,06 [0,01; 0,28], $p < 0,03$) (табл. 2).

Генотипирование 68 штаммов *M. tuberculosis* по 12 локусам MIRU-VNTR выявило 20 вариантов профилей (паттернов). Степень родства между штаммами с различными числовыми профилями отражена на дендрограмме (рис.). Как видно из рисунка, пять паттернов представлены кластерами MIT1, MIT46, MIT16, MIT17, MIT571, включавшими два и более штаммов. Наиболее крупные кластеры MIT16 и MIT17 включали 25 (48,1%) и 21 (40,4%) штаммов генотипа Beijing (88,5%) соответственно. Штаммы кластера MIT17 проявляли МЛУ/ШЛУ, за исключением одного, полирезистентного к ПТП (рис.). Уровень кластеризации штаммов Beijing был выше, чем у штаммов других генетических групп, и составил 94,2% против 25,0% (OR = 49 [9,65; 248,75], $p < 0,03$) соответственно.

Обсуждение

Наблюдаемое в последние годы снижение эффективности химиотерапии туберкулеза легких объясняют, в частности, широкой циркуляцией МЛУ штаммов в генетически неоднородной популяции возбудителя. Особенностью эпидемической ситуации по туберкулезу в Ленинградской области является значительная доля МЛУ штаммов возбудителя (74,1% в 2014 г.) у ранее леченных больных туберкулезом легких [1]. При этом ранее доказана клиническая значимость и преимущественно эпидемический путь распространения МЛУ штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing на территории России [2, 4, 6, 12, 15]. Штаммы данного генотипа характеризует наличие, по меньшей мере, трех спейсеров 35–43 и отсутствие 1–34 спейсеров в профиле сполиготипирования (табл. 1).

Нами впервые показано, что среди штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от больных хроническим туберкулезом легких в Ленинградской области, также преобладают представители генетического семейства Beijing, причем их доля возросла с 56,3% в 1999–2004 гг. до 76,5% в 2010–2014 гг. При этом, если среди non-Beijing ранее преобладали штаммы LAM (16,7%) и T (12,5%), то в 2010–2014 гг. их доля сократилась до 10,3 и 2,9% соответственно. Удельный вес МЛУ в изученных субпопуляциях генотипа Beijing остается практически неизменным (88,9

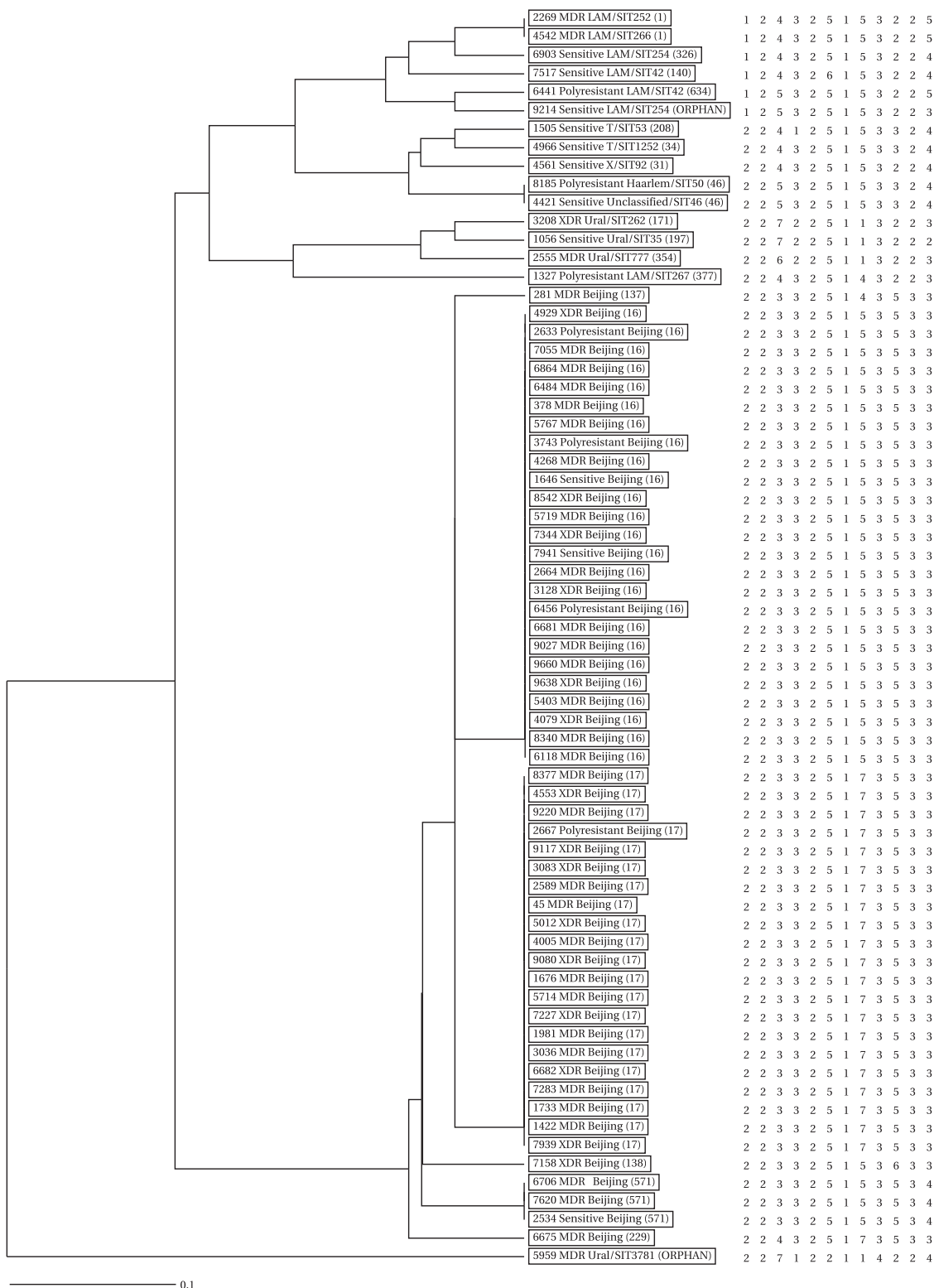


Рисунок. Дендрограмма UPGMA на основе профилей 12 локусов MIRU-VNTR 68 штаммов *M. tuberculosis*

Figure. The UPGMA dendrogram based on 12 MIRU-VNTR loci of 68 *M. tuberculosis* strains

Примечания. Для каждого штамма указаны: номер, отношение к ПТП (Sensitive — ЛЧ, Polyresistant — полирезистентность, MDR — МЛУ, XDR — ШЛУ), генетическое семейство, сполиготип — SIT, в скобках — MIT. Цифрами показано число повторов в 12 локусах MIRU (2, 4, 10, 16, 20, 23, 24, 26, 27, 31, 39, 40).

Notes. In the boxes: strain number, drug resistance profile (Sensitive, Polyresistant, MDR, XDR), genetic family, SIT (spoligo-international type), MIRU-VNTR type (in brackets). The numbers show the number of repeats in the 12 loci (2, 4, 10, 16, 20, 23, 24, 26, 27, 31, 39, 40) profile.

Таблица 2. Отношение штаммов *M. tuberculosis* к противотуберкулезным препаратамTable 2. Drug resistance of *M. tuberculosis* strains

| Генотип/Genotype <i>M. tuberculosis</i> | Число штаммов/Number of strains | | | | | |
|--|---------------------------------|---|---|-----------------|---|---|
| | 1999–2004 гг. | | | 2010–2014 гг. | | |
| | ЛЧ Sensitive | Моно-/ полирезистентность Mono-/polyresistant | МЛУ (в т.ч. ШЛУ) MDR (including XDR) | ЛЧ Sensitive | Моно-/ полирезистентность Mono-/polyresistant | МЛУ (в т.ч. ШЛУ) MDR (including XDR) |
| Beijing | 0 | 3 | 24 | 3 | 4 | 45 (15) |
| non-Beijing | 1 | 4 | 16 | 8 | 3 | 5 (1) |

и 86,5%). Однако в 1999–2004 гг. ШЛУ штаммы не встречались, тогда как в 2010–2014 гг. доля ШЛУ среди МЛУ штаммов Beijing достигла 33,3% (табл. 2).

Однородные по сполиготипу (SIT1) штаммы *M. tuberculosis* Beijing принадлежали к шести MIRU-VNTR-типам. При этом преобладали штаммы (преимущественно МЛУ) с числовыми профилями 223325153533 — MIT16 (48,1%) и 223325173533 — MIT17 (40,4%). Ранее в ряде

регионов России установлена широкая распространенность, клиническая и эпидемиологическая значимость штаммов *M. tuberculosis* генотипа Beijing с данными числовыми профилями MIRU-VNTR [3, 6, 9, 11, 15].

Полученные данные свидетельствуют о необходимости углубленного молекулярно-генетического исследования популяции возбудителя туберкулеза для оценки и мониторинга эпидемиологической ситуации в Ленинградской области.

Список литературы/References

1. Габбасова Л.А., Касаева Т.Ч., Стерликов С.А., Нечаева О.Б., Обухова О.В., Одинцов В.Е., Чебагина Т.Ю. Отраслевые и экономические показатели противотуберкулезной работы в 2009–2014 гг. Методика расчета показателей и статистические материалы по результатам пятилетнего наблюдения. М.: РИО ЦНИИОИЗ, 2015. 68 с. [Gabbasova L.A., Kasayeva T.C., Sterlikov S.A., Nechayev O.B., Obukhov O.V., Odintsov V.E., Chebagina T.Y. Otrasleyevye i ekonomicheskie pokazateli protivotuberkuleznoy raboty v 2009–2014 gg. Metodika rascheta pokazatelei i statisticheskie materialy po rezul'tatam pyatiletnego nablyudeniya [Industry and economic indicators of antituberculosis activities in 2009–2014. The methodology of calculation of indicators and statistical data based on results of the five-year surveillance]. Moscow: FPHI RIO, 2015. 68 p.]
2. Маркелов Ю.М., Нарвская О.В. Циркуляция штаммов возбудителя туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью на территории Республики Карелия // Туберкулез и болезни легких. 2010. № 2. С. 54–56. [Markelov Yu.M., Narvskaya O.V. Circulation of multidrug-resistant tuberculosis pathogen strains in the Republic of Karelia. *Tuberkulez i bolezni legkih = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2010, no. 2, pp. 54–56. (In Russ.)]
3. Огарков О.Б., Медведева Т.В., Zozio T., Погорелов В.И., Некипелов О.М., Гутникова М.Ю., Купцевич Н.Ю., Ушаков И.В., Sola С. Молекулярное типирование штаммов микобактерий туберкулеза в Иркутской области (Восточная Сибирь) в 2000–2005 гг. // Молекулярная медицина. 2007. № 2. С. 33–38. [Ogarkov O.B., Medvedeva T.V., Zozio T., Pogorelov V.I., Nekipelov O.M., Gutnikova M.Yu., Kuptsevich N.Yu., Ushakov I.V., Sola С. Molecular typing of Mycobacterium tuberculosis strains in the Irkutsk Region (Eastern Siberia) in 2000–2005. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine*, 2007, no. 2, pp. 33–38. (In Russ.)]
4. Умпелева Т.В., Вязовая А.А., Еремеева Н.И., Кравченко М.А., Нарвская О.В., Скорняков С.Н. Генетические особенности возбудителя туберкулеза в Уральском федеральном округе России // Туберкулез и болезни легких. 2016. Т. 94, № 8. С. 60–65. [Umpeleva T.V., Vyazovaya A.A., Eremeeva N.I., Kravchenko M.A., Narvskaya O.V., Skorniakov S.N. Specific genetic features of Mycobacterium tuberculosis in Ural Federal District of Russia. *Tuberkulez i bolezni legkih = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2016, vol. 94, no. 8, pp. 60–65. (In Russ.)]
5. Яблонский П.К., Вишневецкий Б.И., Соловьева Н.С., Маничева О.А., Догондзе М.З., Мельникова Н.Н., Журавлев В.Ю. Лекарственная устойчивость Mycobacterium tuberculosis при различных локализациях заболевания // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 133–140. [Yablonskii P.K., Vishnevskiy B.I., Solovyeva N.S., Manicheva O.A., Dogonadze M.Z., Melnikova N.N., Zhuravlev V.Yu. Drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in different localizations of the disease. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*. 2016, vol. 6, no. 2, pp. 133–140. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-133-140 (In Russ.)]
6. Drobniewski F., Balabanova Y., Nikolayevsky V., Ruddy M., Kuznetsov S., Zakharova S., Melentyev A., Fedorin I. Drug-resistant tuberculosis, clinical virulence, and the dominance of the Beijing strain family in Russia. *JAMA*, 2005, vol. 293, no. 22, pp. 2726–2731.
7. Gibson A., Huard R., Gey van Pittius N., Lazzarini L., Driscoll J., Kurepina N., Zozio T., Sola C., Spindola S., Kritski A., Fitzgerald D., Kremer K., Mardassi H., Chitale P., Brinkworth J., Garcia de Viedma D., Gicquel B., Pape J., Van Soolingen D., Kreiswirth B., Warren R., Van Helden P., Rastogi N., Suffys P., Lapa e Silva J., Ho J. Application of sensitive and specific molecular methods to uncover global dissemination of the major RDRio Sublineage of the Latin American-Mediterranean Mycobacterium tuberculosis spoligotype family. *J. Clin. Microbiol.*, 2008, vol. 46, no. 4, pp. 1259–1267.
8. Kamerbeek J., Schouls L., Kolk A., Van Agterveld M., Van Soolingen D., Kuijper S., Bunschoten A., Molhuizen H., Shaw R., Goyal M., Van Embden J. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, vol. 35, no. 4, pp. 907–914.

9. Mokrousov I. Genetic geography of Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype: a multifacet mirror of human history? *Infect. Genet. Evol.*, 2008, vol. 8, no. 6, pp. 777–785. doi: 10.1016/j.meegid.2008.07.003
10. Mokrousov I. Mycobacterium tuberculosis phylogeography in the context of human migration and pathogen's pathobiology: Insights from Beijing and Ural families. *Tuberculosis (Edinb)*. 2015, no. 95 (suppl.), pp. S167–176.
11. Mokrousov I., Vyazovaya A., Otten T., Zhuravlev V., Pavlova E., Tarashkevich L., Krishevich V., Vishnevsky B., Narvskaya O. Mycobacterium tuberculosis population in northwestern Russia: an update from Russian-EU/Latvian border region. *PLoS One*. 2012, vol. 7, no. 7:e41318. doi: 10.1371/journal.pone.0041318.
12. Mokrousov I., Vyazovaya A., Solovieva N., Sunchalina T., Markelov Y., Chernyaeva E., Melnikova N., Dogonadze M., Starkova D., Vasilieva N., Gerasimova A., Kononenko Y., Zhuravlev V., Narvskaya O. Trends in molecular epidemiology of drug-resistant tuberculosis in Republic of Karelia, Russian Federation. *BMC Microbiol.*, 2015, no. 15: 279. doi: 10.1186/s12866-015-0613-3
13. Supply P., Allix C., Lesjean S., Cardoso-Oelemann M., Rüsche-Gerdes S., Willery E., Savine E., De Haas P., Van Deutekom H., Roring S., Bifani P., Kurepina N., Kreiswirth B., Sola C., Rastogi N., Vatin V., Gutierrez M.C., Fauville M., Niemann S., Skuce R., Kremer K., Loch C., Van Soolingen D. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of Mycobacterium tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, vol. 44, no. 12, pp. 4498–4510.
14. Van Embden J., Cave M., Crawford J., Dale J., Eisenach K., Gicquel B., Hermans P., Martin C., McAdam R., Shinnick T., Small P. Strain identification on Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, no. 31, pp. 406–409.
15. Vyazovaya A., Mokrousov I., Solovieva N., Mushkin A., Manicheva O., Vishnevsky B., Zhuravlev V., Narvskaya O. Tuberculous spondylitis in Russia and prominent role of multidrug-resistant clone Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2015, vol. 59, no. 4, pp. 2349–2357.

Авторы:

Вязовая А.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Ветров В.В., научный сотрудник лаборатории эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Лялина Л.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Мокроусов И.В., д.б.н., зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Соловьева Н.С., к.м.н., зав. бактериологической лабораторией Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Журавлев В.Ю., к.м.н., руководитель отдела лабораторной диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Вिशневский Б.И., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Нарвская О.В., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; научный консультант отдела лабораторной диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Vyazovaya A.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Vetrov V.V., Researcher, Laboratory of Epidemiology of Infectious and Non-Infectious Diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Lyalina L.V. PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Epidemiology of Infectious and Non-Infectious Diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Mokrousov I.V., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Solovieva N.S. PhD (Medicine), Head of the Bacteriological Laboratory, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Zhuravlev V.Yu., Head of Department of the Laboratory Diagnostics, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Vishnevskiy B.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head Researcher, Department of Laboratory Diagnostics, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Narvskaya O.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Scientific Advisor, Department of Laboratory Diagnostics, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation.

ВИРУС ЭПШТЕЙНА–БАРР У БОЛЬНЫХ РАКОМ НОСОГЛОТКИ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ В ДВУХ ГЕОГРАФИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ РОССИИ

Н.Б. Сенюта, А.В. Игнатова, М.В. Ломая, Е.В. Гончарова, Л.Н. Щербак,
Т.Е. Душенькина, Д.В. Гугунов, А.М. Мудунов, В.Э. Гурцевич

ФГБУ Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия

Резюме. Известно, что вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), широко распространенный в человеческой популяции, является также этиологическим агентом для широкого спектра злокачественных новообразований. Примечательной особенностью опухолей, ассоциированных с ВЭБ, является их отличающийся уровень заболеваемости в различных географических регионах. На уровне заболеваемости ВЭБ-ассоциированными патологиями оказывает влияние вариабельность многочисленных локусов генома вируса и его онкогена — латентного мембранного белка 1 (LMP1), с которым связан трансформирующий потенциал вируса. Учитывая многонациональный состав населения России, разнообразие географических зон и условий его проживания, представлялось актуальным изучить у жителей из разных географических регионов страны характер их взаимоотношения с ВЭБ. Для решения поставленной задачи антителный ответ к локально циркулирующим штаммам ВЭБ, определяемый методом непрямой иммунофлуоресценции, изучали у представителей Центрального, Северо-Кавказского и Дальневосточного федеральных округов, здоровых и больных различными опухолями головы и шеи. Полученные титры антител сопоставляли с показателями заболеваемости в этих же округах опухолями носоглотки (ОНГ). С целью выяснения наличия структурных модификаций в гене LMP1 у штаммов ВЭБ, циркулирующих в изучаемых географических регионах, указанный ген из биологического материала, собранного от представителей изучаемых групп, был амплифицирован методом «гнездовой» ПЦР и секвенирован. Исследования показали, что уровни гуморального ответа к ВЭБ у представителей, вошедших в исследование регионов, существенно разнятся. При этом было обнаружено, что у жителей Республики Дагестан и Чеченской Республики (представителей Северо-Кавказского федерального округа), имеет место корреляция между усиленным гуморальным ответом к ВЭБ и повышенной заболеваемостью ОНГ. Поскольку среди ОНГ доминирует ВЭБ-ассоциированная форма рака носоглотки (РНГ^{ВЭБ}), то полученные данные позволяют предположить наличие у населения этих республик генетической предрасположенности к повышенной репликации ВЭБ и, соответственно, к повышенной заболеваемости РНГ^{ВЭБ}. Исследование также показало, что представители изученных регионов инфицированы штаммами ВЭБ, образцы LMP1 которых относятся к известным в литературе вариантам, таким как B95.8, China 1, Med+, Med– и NC, но вариант

Адрес для переписки:

Гурцевич Владимир Эдуардович
115478, Россия, Москва, Каширское ш., 24,
ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ.
Тел.: 8 (499) 324-25-64 (служебн.); 8 910 444-83-52 (моб.).
Факс: 8 (499) 324-12-05.
E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru

Contacts:

Vladimir E. Gurtsevitch
115478, Russia, Moscow, Kashirskoye highway, 24,
N.N. Blokhin Cancer Research Center.
Phone: +7 (499) 324-25-64 (office); +7 910 444-83-52 (mobile).
Fax: +7 (499) 324-12-05.
E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru

Библиографическое описание:

Сенюта Н.Б., Игнатова А.В., Ломая М.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Душенькина Т.Е., Гугунов Д.В., Мудунов А.М., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–Барр у больных раком носоглотки и здоровых лиц в двух географически различных регионах России // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 41–50. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-41-50

Citation:

Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Goncharova E.V., Scherback L.N., Dushenkina T.E., Gugunov D.V., Mudunov A.M., Gurtsevitch V.E. Epstein–Barr virus in the population of two geographically different regions of Russia // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 41–50. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-41-50

LMP1, специфически ассоциированный с РНГ^{ВЭБ}, выявлен не был. Проведенное исследование впервые выявило генетическую разнородность штаммов ВЭБ, циркулирующих среди населения различных географических регионов страны, и наличие корреляции между уровнями гуморального ответа к ВЭБ и заболеваемостью опухолями носоглотки, включая РНГ^{ВЭБ}.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр, гуморальный ответ, рак носоглотки, онкоген LMP1.

EPSTEIN–BARR VIRUS IN THE POPULATION OF TWO GEOGRAPHICALLY DIFFERENT REGIONS OF RUSSIA

Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Goncharova E.V., Scherback L.N., Dushenkina T.E., Gugunov D.V., Mudunov A.M., Gurtsevitch V.E.

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health, Moscow, Russian Federation

Abstract. It is well known that the Epstein–Barr virus (EBV) being widely spread in the human population is also the etiologic agent for a number of malignancies. A notable feature of tumors associated with EBV is their different incidence in various geographical regions, that, as suggested, related with mutational events in multiple loci of the EBV genome and its oncogene, the latent membrane protein 1 (LMP1), associated with the transforming potential of the virus. Given the multi-ethnic composition of Russian population and the diversity of geographical areas and conditions of their residence, it was relevant to examine the representatives of different geographical regions for the nature of their relationship with EBV. To solve this task the antibody response to locally circulating EBV strains, determined by indirect immunofluorescence, was studied in residents of the Central, North Caucasus and Far Eastern Federal Districts, represented by healthy individuals and patients with various head and neck tumors. The levels of antibody titers obtained were compared with the incidence rates of nasopharyngeal tumors (NPT) in population of above Districts. In order to determine possible structural modifications in LMP1 gene of EBV strains persisting in selected geographic regions, samples of the gene have been amplified from a biological material collected by “nested” PCR and sequenced. The results obtained have shown that levels of antibody response to EBV among representatives of the regions included in the study vary significantly. It was found that in residents of the Dagestan and the Chechen Republics, the inhabitants of the North Caucasus Federal District, the correlation between enhanced humoral response to EBV and increased incidence of NPT was detected. Since among NPT the EBV-associated form of nasopharyngeal carcinoma (NPC^{EBV}) is dominated, the findings allow us to suggest that the population of these Republics have genetic predisposition to increased EBV replication and, consequently, an elevated incidence of NPC^{EBV}. The study also showed that representatives of the regions tested are infected with EBV strains, LMP1 variants of which such as B95.8, China 1, Med+, Med– and NC, are known in the literature. However, LMP1 variant, specifically associated with NPC^{EBV}, has not been identified. This study showed for the first time the genetic heterogeneity of EBV strains circulating among population of different geographical regions of the country, and the existence of correlation between antibody response to EBV and the incidence of nasopharyngeal tumors, including NPC^{EBV}.

Key words: Epstein–Barr virus, antibody response, nasopharyngeal cancer, LMP1 oncogene.

Введение

Известно, что вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) латентно инфицировано примерно 95% населения планеты, и в то же время он причастен к возникновению целого ряда злокачественных новообразований человека лимфоидного и эпителиального происхождения. К их числу относят лимфому Беркитта, рак носоглотки, определенные гистологические варианты лимфомы Ходжкина и рака желудка, назальные НК/Т-клеточные лимфомы, лейомиосаркому, многочисленные лимфомы, возникающие на фоне иммунодефицитного состояния и др.

Важно отметить, что в инфицированном организме вирус, как правило, избегает своего распознавания иммунной системой. Это про-

исходит, прежде всего, благодаря экспрессии в В-лимфоцитах памяти (место персистенции вируса) ограниченного числа вирусных генов, нарушению механизма экспрессии вирусных антигенов на поверхности В-лимфоцитов, а также повреждению иммунного ответа на инфицированные вирусом клетки [17]. Примечательной особенностью ассоциированных с ВЭБ злокачественных новообразований является их отличающийся уровень заболеваемости в различных географических регионах, подразделяемых на эндемичные, не эндемичные и регионы с промежуточным уровнем заболеваемости [21]. Причины наблюдаемого феномена до сих пор мало изучены. Среди возможных факторов, влияющих на частоту заболеваний, рассматривают вредные факторы окружающей среды, HLA-генотип хозяина, а также струк-

турные особенности и биологические свойства штаммов ВЭБ. Исследования показали, что существует два генотипа вируса, ВЭБ-1 и ВЭБ-2, встречающиеся в различных географических регионах с неодинаковой частотой [4]. Их основное фенотипическое различие состоит в том, что ВЭБ-1 трансформирует В-лимфоциты человека в лимфобластоидную клеточную линию более эффективно, то есть обладает более выраженным трансформирующим потенциалом по сравнению с ВЭБ-2 [4]. Дальнейшее изучение изменчивости вирусных изолятов привело к идентификации полиморфизма в BamHI-F области генома ВЭБ [13]. В отличие от прототипного штамма вируса B95.8 («F-тип»), обнаружен штамм ВЭБ, содержащий в этой же области генома дополнительный сайт рестрикции BamHI («f» вариант). Указанный штамм доминировал у больных раком носоглотки (РНГ) из южных провинций Китая, но обнаруживался крайне редко в клетках спонтанных лимфобластоидных линий, выделенных от здоровых южно-китайских и или североамериканских доноров [12].

При изучении сиквенсов изолятов ВЭБ различного географического и этнического происхождения обнаружены существенные вариации в многочисленных локусах вирусного генома, влияющих на трансформирующий потенциал вируса. В частности, неодинаковый онкогенный потенциал ВЭБ в различных географических регионах может быть связан с полиморфизмом основного онкогена ВЭБ, латентного мембранного белка 1 (LMP1). Онкобелок, кодируемый известным в литературе вариантом LMP1 «Сао», LMP1-Сао, в отличие от его прототипного варианта LMP1-B95.8, содержит характерную делецию 10 аминокислот (30 п.н.) и дополнительно 26 аминокислотных замен [1]. Доказано, что функционально LMP1-Сао по сравнению с LMP1-B95.8 обладает более выраженным трансформирующим потенциалом *in vitro* [19], а также повышенной туморогенностью, сниженной иммуногенностью и усиленной сигнальной активностью [1, 15, 22]. Показано также, что нуклеотидные замены в генах, кодирующих различные варианты LMP1, как правило, расположены в областях, контролирующей стадии транскрипции или трансляции. В составе белка — это аминокислоты, которые влияют на функциональную активность, иммуногенность, время полужизни или трансформирующий потенциал LMP1 [15, 22]. Активация LMP1 целого ряда транскрипционных факторов (NF-κB, AP-1, STAT) изменяет профиль внутриклеточной активности ряда сигнальных путей [20]. В частности, этот онкобелок подавляет (как правило, опосредовано) экспрессию ряда ключевых опухолевых супрессоров (p53,

RASSF1A), нарушает работу проверочных точек клеточного цикла G1-S, обеспечивая выживание поврежденных клеток [5, 14]. LMP1 индуцирует также экспрессию провоспалительных цитокинов, наделяет инфицированные клетки резистентностью к апоптозу, вызывает эпителиально-мезенхимальный переход (EMT), усиливает подвижность клеток, их инвазию и метастазирование, селективно подавляет либо активирует экспрессию ряда клеточных микро-РНК и т.д. [9, 23]. Под влиянием LMP1 вирусных изолятов различного клинического и географического происхождения уровни активации транскрипционных факторов и, соответственно, каскады сигнальных путей, могут быть существенно модифицированы [18].

Многочисленными работами также доказано, что возникновение ряда ассоциированных с ВЭБ новообразований сопровождается повышенными титрами гуморальных антител к ВЭБ, которые поднимаются до высоких уровней еще в доклинической фазе болезни. При этом, обнаружение антител, относящихся, в частности, к глобулину класса А (IgA) против капсидного антигена ВЭБ (ВКА), широко используется для скрининга РНГ в эндемичных по этому заболеванию южных провинциях Китая, Гонконга, Сингапура и Малайзии [18].

Как известно, Россия — многонациональное государство с обширной территорией, расположенной в различных географических и климатических зонах. Населяющие страну многочисленные этносы, отличаются генетически, условиями быта и факторами воздействия окружающей среды. Учитывая вышесказанное, объектом нашего изучения стали представители Центрального (ЦФО) и Северо-Кавказского (СКФО) федеральных округов — регионов, отличающихся по географическому расположению, климатическим условиям и этническому составу населения. Цель исследования состояла в изучении у представителей этих регионов, уровней серологического ответа к ВЭБ, поиске зависимости между показателями иммунного ответа к вирусу и заболеваемостью опухолями носоглотки, включая опухоли, ассоциированные с ВЭБ, а также в анализе вариантов онкогена LMP1 в штаммах вируса, циркулирующих в изучаемых популяциях.

Материалы и методы

Исследуемый материал. Объектом для изучения стали образцы крови и/или смыва ротоглотки от здоровых лиц/доноров крови и больных ВЭБ-ассоциированными формами РНГ (РНГ^{ВЭБ}) и другими опухолями головы и шеи (ДОГШ), не ассоциированными с этим вирусом. В исследовании участвовали представите-

ли Москвы и Московской области, а также других областей Центрального федерального округа (ЦФО) России. Вторую группу составили представители Северо-Кавказского федерального округа (СКФО) — жители республик Дагестан и Чечня. Забор биологического материала от больных и здоровых лиц осуществлялся с их согласия и был одобрен Комитетом по этике при ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ.

Экстракция ДНК и амплификация гена LMP1. Из собранного биологического материала ДНК выделяли методом фенол-хлороформной депротенинизации. Наличие и концентрацию ДНК в выделенных образцах анализировали методом ПЦР в реальном времени, описанном нами ранее [19]. Амплификацию LMP1 проводили в два этапа с внешними и внутренними праймерами по принятой нами методике [6, 8]. Каждый ПЦР-продукт очищали на мини-колонке “QIAGEN” согласно инструкции производителя. На реакцию брали примерно 100–200 нг ПЦР-продукта, а концентрацию ДНК оценивали визуально в агарозном геле. В качестве положительного контроля использовали 1 мкг ДНК, выделенной из используемой в качестве стандарта клеточной линии В95.8, а в качестве отрицательного контроля — воду.

Секвенирование ПЦР-продуктов LMP1. Ампликоны LMP1 секвенировали в обоих направлениях. Секвенирование проводили с помощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК ABI PRISM 3100-Avant. Обработку данных секвенирования проводили с помощью программ Chromas 230 и Vector NTI.

Классификация LMP1. Нуклеотидные последовательности изолятов LMP1, амплифицированные из изучаемых образцов крови/смыслов ротоглотки и транслированные в аминокислотные последовательности, подверглись классификации на основании обнаруживаемых в этих последовательностях точковых мутаций, ведущих к заменам отдельных аминокислот, формированию делеций и дупликаций. При этом за основу была принята известная в литературе классификация Edwards et al. [3], сформированная на базе сиквенсного анализа транслированных последовательностей гена LMP1, полученных от больных ВЭБ-ассоциированной патологией и здоровых вирусоносителей из различных географических регионов мира. В классификации Edwards et al. обозначение вариантов LMP1 отражало их географическое происхождение: Alaskan (Ala), China 1 (Ch1), China 2 (Ch2), China 3 (Ch3), Mediterranean+ (Med+), Mediterranean– (Med–) и North Carolina (NC). Важно отметить, что вариант China1 является аналогом высоко опухоленгенного варианта LMP1-Сао.

Серологический тест на антитела к ВЭБ. Количественное определение титров IgG- и IgA-антител к капсидному антигену ВЭБ (ВЭБ/ВКА) осуществляли непрямой методом иммунофлуоресценции, используя конъюгированные FITC козы антитела против IgG и IgA человека (Jackson Immune Research Laboratories, Inc.). Для тестирования сывороток/плазмы крови на наличие ВЭБ-специфических антител использовали клеточную линию P3HR1, продуцирующую вирус и синтезирующую его капсидный антиген (ВКА), и не продуцирующую вирус клеточную линию Raji, синтезирующую после обработки индукторами ранний антиген (РА) вируса. Для усиления экспрессии вирусных антигенов, клеточную линию Raji, обрабатывали ТРА (12-О-тетрадеcanoил-форбол-13-ацетат) в концентрации 20 нг/мл в сочетании с бутиратом натрия в дозе 3 мкМ/мл в течение 3–5 дней, а клеточную линию P3HR1 обрабатывали одним ТРА в течение 3–6 дней в той же дозе. Клеточные линии культивировали в среде RPMI 1640 с добавлением 10% эмбриональной сыворотки Gibco, при 37°C и 5% CO₂. Приготовленные таким образом пулы клеток наносили на предметные стекла, фиксировали их и использовали в качестве антигена. При определении титров антител применяли 2-кратные разведения сывороток/плазмы крови. Серологический ответ для каждой группы изучаемых лиц оценивали по среднему геометрическому значению (СГЗ) титров антител.

Статистический анализ. Точный тест Фишера был использован для сравнения достоверности различий между процентным содержанием вариантов LMP1 в биологических образцах сравниваемых групп. Значения p менее 0,05 ($p < 0,05$) указывало на наличие существенных различий.

Результаты

Гуморальный ответ к вирусу Эпштейна–Барр у больных РНГ, ДОГШ и у здоровых лиц — представителей различных регионов России

Проведенные исследования показали, что наиболее низкий уровень иммунореактивности к антигенам ВЭБ был зарегистрирован у здоровых лиц — московских доноров крови (табл. 1). В двух группах больных ДОГШ из Москвы и Московской области и СКФО СГЗ титров антител к тестируемым антигенам ВЭБ также были невысокими, что закономерно для опухолей, не ассоциированных с вирусом; их показатели были одного порядка и различия между ними были статистически недостоверными ($p > 0,05$). У больных РНГ^{ВЭБ} из Москвы и Московской области показатель СГЗ титров IgG-антител к ВКА был в 15,9 раз выше, чем у доноров крови и практически в 2 раза выше, чем у больных той же формой опухоли из других

Таблица 1. Гуморальный ответ к вирусу Эпштейна–Барр у больных РНГ*, ДОГШ и у здоровых лиц, представителей двух географически удаленных регионов России**

Table 1. Antibody response to Epstein–Barr virus in patients with NPC*, OHNT** and in blood donors, representatives of two geographical remote regions of Russia

| Группы Groups | Геометрические значения титров антител Geometric mean antibody titers | | | | |
|---|--|------------|----------|------------|----------|
| | Число случаев Number of cases | IgG | | IgA | |
| | | ВКА VCA | РА EA | ВКА VCA | РА EA |
| Доноры крови, Москва Moscow blood donors | 25 | 22,1 | 10,0 | 1 | 1 |
| Больные раком носоглотки Nasopharyngeal carcinoma patients | | | | | |
| ЦФО-Москва/CFD-Moscow | 10 | 3,4 | 139,2 | 85,7 | 48,2 |
| ЦФО-МиМО/CFD-M&MR | 15 | 351,0 | 127,0 | 66,5 | 45,3 |
| ЦФО-ДО/CFD-OR | 10 | 179,7 | 43,9 | 44,9 | 33,3 |
| СКФО/NCFD | 28 | 641,0 | 168,1 | 136,7 | 90,4 |
| Больные другими опухолями головы и шеи Other head and neck tumor patients | | | | | |
| ЦФО-МиМО/CFD-M&MR | 25 | 47,3 | 1,9 | 1,4 | 1,1 |
| СКФО/NCFD | 11 | 60,9 | 3,4 | 1,5 | 1,3 |

Примечания. *РНГ — рак носоглотки; **ДОГШ — другие опухоли головы и шеи; ВКА, РА — вирусный капсидный и ранний антигены вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ); ЦФО-Москва — Москва, Центральный федеральный округ; ЦФО-МиМО — Москва и Московская область, Центральный федеральный округ; ЦФО-ДО — другие области, Центральный федеральный округ; СКФО — Северо-Кавказский федеральный округ.
Notes. *NPC — nasopharyngeal carcinoma; **OHNT — other head and neck tumors; VCA, EA — viral capsid and early antigens of the Epstein–Barr virus (EBV); CFD-Moscow — Moscow, Central Federal District; CFD-M&MR — Moscow and Moscow regions, Central Federal District; CFD-OR — other regions, Central Federal District; NCFD — North Caucasian Federal District.

областей ЦФО (351,0 и 179,7 соответственно). СГЗ титров IgG-антител к РА в двух указанных группах больных РНГ^{ВЭБ} отличались еще больше, почти в 3 раза (127,0 и 43,9 соответственно), хотя для титров IgA-антител и к ВКА (66,5 и 44,9 соответственно), и РА (45,3 и 33,3 соответственно) различия между показателями СГЗ титров были небольшими и статистически недостоверными ($p > 0,05$).

Средние геометрические значения титров антител к вирусу Эпштейна–Барр у представителей ЦФО, Москвы и СКФО

Проведенные исследования показали, что гуморальные ответы к ВЭБ у больных РНГ^{ВЭБ} из других областей ЦФО и СКФО существенно отличаются (рис. 1). СГЗ титров IgG-антител к ВКА и РА в этих группах больных отличались в 3,7 и 3,8 раз (179,7 и 641,0; 43,9 и 168,1 соответственно), а СГЗ титров IgA-антител к тем же антигенам — в 3,0 и 2,7 раза (44,9 и 136,7; 33,3 и 90,4 соответственно) при статистически значимых различиях показателей между соответствующими группами ($p < 0,05$). Серологический ответ к ВЭБ у больных РНГ^{ВЭБ} из Москвы и Московской области, также был существенно слабее, чем у тех же больных из СКФО, однако статистические значимые различия выявлены только для IgA-антител к ВКА и РА.

Сравнительный анализ активности гуморального ответа к вирусу Эпштейна–Барр у больных РНГ и показателей заболеваемости опухолями носоглотки у населения ЦФО и СКФО

На основании полученных данных можно было предположить, что более активная репликация ВЭБ, и как следствие, усиленный гуморальный ответ к вирусу, отражают и более высокую предрасположенность к возникновению РНГ^{ВЭБ}. Результаты сопоставления у больных РНГ^{ВЭБ} и заболеваемости опухолями носоглотки (ОНГ) у населения ЦФО и СКФО, указывают на такую возможность (рис. 2А, Б). Из рисунка 2А видно, что для больных РНГ^{ВЭБ} из СКФО характерны более высокие и статистически достоверно отличающиеся СГЗ титров антител к каждому из тестируемых антигенов вируса, чем таковые для больных РНГ^{ВЭБ} из ЦФО, за исключением Москвы и Московской области ($p < 0,5$). Более высокие показатели гуморального ответа к ВЭБ у больных РНГ^{ВЭБ} из СКФО сопровождаются и более высокими показателями заболеваемости населения этого округа опухолями носоглотки (ОНГ) (рис. 2Б). Действительно, заболеваемость ОНГ у населения СКФО, общая, и раздельная у мужчин и женщин, была статистически достоверно выше соответствующих показателей заболеваемости этой же локализацией опухоли у населения ЦФО ($p < 0,05$).

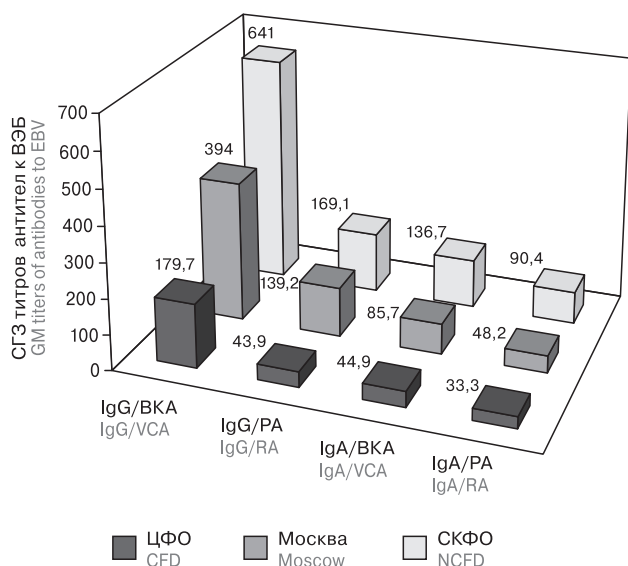


Рисунок 1. Средние геометрические значения титров антител к антигенам вируса Эпштейна–Барр у представителей Центрального федерального округа (ЦФО), Москвы и Северо-Кавказского федерального округа (СКФО)

Figure 1. Geometric mean antibody titers to Epstein–Barr virus antigens in representatives of the Central Federal District (CFD), Moscow City and the North Caucasus Federal District (NCFD)

Примечания. IgG/BKA и IgG/PA — титры антител иммуноглобулина класса G к вирусным капсидному (BKA) и раннему (PA) антигенам вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ); IgA/BKA и IgA/PA — титры антител иммуноглобулина класса A к вирусным капсидному (BKA) и раннему (PA) антигенам ВЭБ; цифры обозначают средние геометрические значения (СГЗ) титров антител.

Notes. IgG/VCA and IgG/RA — antibody titers of immunoglobulin class G to viral capsid (VCA) and early antigens (RA) of Epstein–Barr virus (EBV); IgA/VCA and IgA/RA — immunoglobulin class A antibody titers to viral capsid (VCA) and early (EA) EBV antigens; numbers indicate the geometric mean antibody (GMA) titers.

Показатели заболеваемости опухолями носоглотки в ЦФО и республиках Чечня и Дагестан

Поскольку в состав СКФО входят Дагестан и Чечня, представлялось важным сравнить заболеваемость ОНГ у населения каждой из этих республик с заболеваемостью той же формой опухоли у населения Москвы. Проведенный анализ показал (рис. 3), что уровни заболеваемости ОНГ в обеих республиках примерно в 2–3 раза превышают соответствующий показатель по Москве, что еще раз подтверждает наличие связи между усиленным гуморальным ответом к ВЭБ и увеличенной заболеваемостью ОНГ, среди которых доминируют ВЭБ-ассоциированные формы (РНГ^{ВЭБ}).

Полиморфизм онкогена LMP1 у больных РНГ, ДОГШ и у здоровых лиц — представителей разных географических регионов

Структурный анализ нуклеотидных и предсказанных аминокислотных (а.к.) последовательностей ампликонов гена LMP1, полученных из биологического материала больных РНГ^{ВЭБ}, ДОГШ и здоровых лиц, позволил обнаружить у них широкий спектр вариантов белка LMP1 (табл. 2). При этом у больных разного географического происхождения частота выявления таких вариантов, как LMP1, B95.8, China1, Med+, Med– и NC существенно варьировала. Низкодивергентный вариант, обладающий и низкой трансформирующей активностью, B95.8/A, наиболее часто встречался у доноров г. Москвы (80%, 12/15). Частота выявления низкодивергентного варианта B95.8/A у больных РНГ^{ВЭБ} и ДОГШ из Москвы и Московской области, существенно различалась: она была невысокой у больных РНГ^{ВЭБ} (9,1%, 1/11) и несколько повышенной у больных ДОГШ (29,4%, 5/17), что представляется логичным. В этих группах больных существенно различались и показатели сумм вариантов China1 и Med+, обладающих делецией 10 а.к. и более высокой трансформирующей активностью. У больных РНГ^{ВЭБ} их суммарное значение было примерно в 2 раза выше, чем у больных ДОГШ (54,6%, 6/11 и 23,6%, 4/17 соответственно).

Еще более высокая сумма высокоонкогенных вариантов LMP1 оказалась у больных РНГ^{ВЭБ} из других областей ЦФО (66%, 6/9). Эти наблюдения позволяют предположить, что штаммы ВЭБ с трансформирующими вариантами LMP1 причастны к ВЭБ-ассоциированному канцерогенезу и возникновению РНГ^{ВЭБ}. Интересно отметить, что у больных РНГ^{ВЭБ} из других областей ЦФО и СКФО общее содержание высоко трансформирующих вариантов LMP1 также преобладало (66,6%, 6/9 и 58,4%, 14/24 соответственно) над содержанием в этих же группах низко трансформирующего варианта B95.8/A (22,2%, 2/9 и 12,5%, 3/24 соответственно; $p < 0,05$). Представляется интересным тот факт, что у больных ДОГШ из СКФО указанные трансформирующие варианты LMP1 встречались гораздо чаще, чем у больных ДОГШ из Москвы и Московской области (50,0%, 3/6 и 23,5%, 4/17 соответственно). Полученные данные указывают на более широкое распространение среди населения СКФО штаммов вируса с высоко трансформирующими вариантами онкогена LMP1. Данное наблюдение находится в соответствии с показателями повышенной заболеваемости ОНГ у населения СКФО по сравнению с населением ЦФО (см. рис. 2Б). Действительно, показатели заболеваемости ОНГ у мужчин, женщин и общий у представителей СКФО превышали более чем в 2 раза

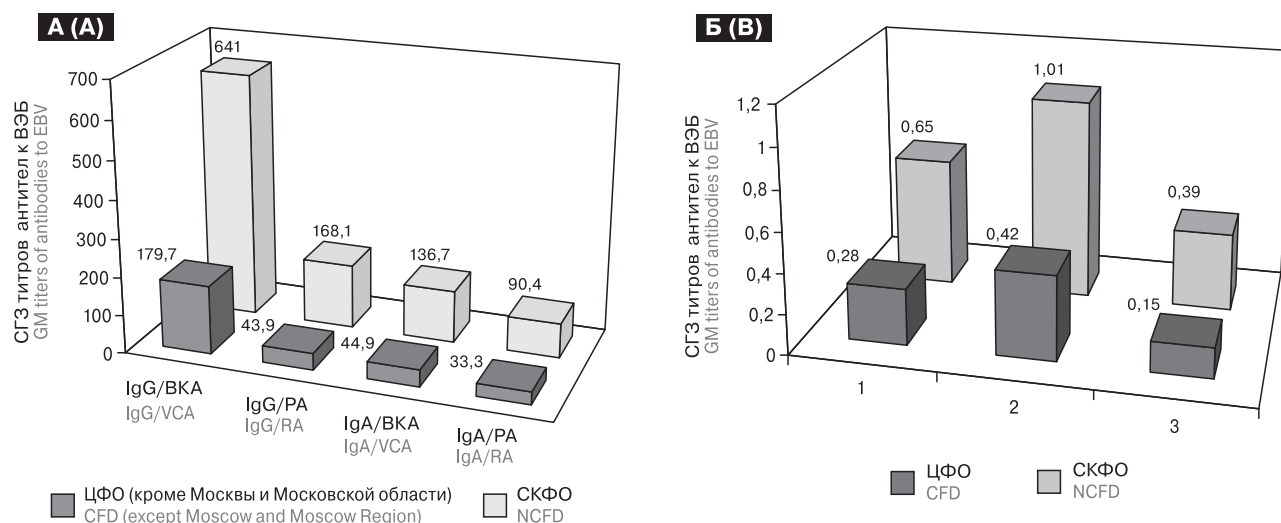


Рисунок 2. Сравнительный анализ активности гуморального ответа к вирусу Эпштейна–Барр у больных раком носоглотки (РНГ) и показателей заболеваемости опухолями носоглотки (ОНГ) у населения удаленных регионов страны

Figure 2. A comparative analysis of the activity of the humoral response to the Epstein–Barr virus in patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC) and incidence of the nasopharyngeal tumor (NPT) rates in the population of two regions of the country

А. Титры IgG- и IgA-антител к вирусным капсидному и раннему (ВКА и РА) антигенам вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) у больных раком носоглотки (РНГ), представителей Центрального (ЦФО) и Северо-Кавказского федеральных округов (СКФО).

А. IgG and IgA antibodies titers to viral capsid and early antigens (VCA and RA) of Epstein–Barr virus (EBV) in patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC), representatives of the Central (CFD) and the North Caucasus Federal Districts (NCFD).

Б. Показатели заболеваемости опухолями носоглотки (ОНГ) на 100 тыс. населения в Центральном (ЦФО) и Северо-Кавказском (СКФО) федеральных округах [Сб. Злокачественные новообразования в России в 2015 г. (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. Москва, 2016].

В. Incidences of the nasopharyngeal tumor (NPT) rates per 100 000 population in the Central (CFD) and the North Caucasus (NCFD) Federal Districts [In: Malignancies in Russia in 2015 (morbidity and mortality). Eds. A.D. Caprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. Moscow, 2016].

таковые у населения ЦФО ($p < 0,001$). Другой вариант LMP1, Med⁻, аналог варианта Med⁺, не обладающий делецией 10 а.к., чаще всего обнаруживали у больных ДОГШ из Москвы и Московской области и СКФО (29,4%, 5/17 и 33,3%, 2/6); соответственно). Вариант NC у больных РНГ из других областей ЦФО и ДОГШ из СКФО, был также обнаружен в остальных группах. У больных РНГ из Москвы и Московской области и СКФО частота его выявления составила 9,1% (1/11) и 12,5% (3/24) соответственно, а у московских доноров крови (13,3%, 2/15). Интересно отметить, что такие описанные в литературе варианты LMP1, как China2, China3 и Alaska, ни в одной изученной нами популяции обнаружены не были.

Обсуждение

Более высокие титры IgG-антител к ВКА и РА вируса у больных РНГ^{ВЭБ} из Москвы и Московской области, чем у больных той же формой опухоли из других областей ЦФО, ве-

роятно, обусловлены рядом факторов. Один из них — возможность многократного инфицирования ВЭБ лиц, проживающих в московском мегаполисе за счет тесных бытовых контактов в результате высокой концентрации населения. Нельзя также исключить, что на усиленную репликацию вируса у этих лиц влияет высокий ритм жизни и деловой активности, провоцирующие частые стрессовые ситуации и угнетение иммунной системы и т.д. Высказанное предположение подтверждается более высокой иммунореактивностью к ВЭБ у больных РНГ^{ВЭБ} из Москвы, чем из Москвы и Московской области и других областей, относящихся к ЦФО (табл. 2). Однако, окончательно объяснить наблюдаемый феномен позволит только тестирование здоровых лиц из сравниваемых регионов.

С другой стороны, можно предположить, что более выраженные гуморальные ответы к ВЭБ у больных РНГ^{ВЭБ} из СКФО, чем из других областей ЦФО, объясняются генетическими особенностями двух популяций, в частности, разной

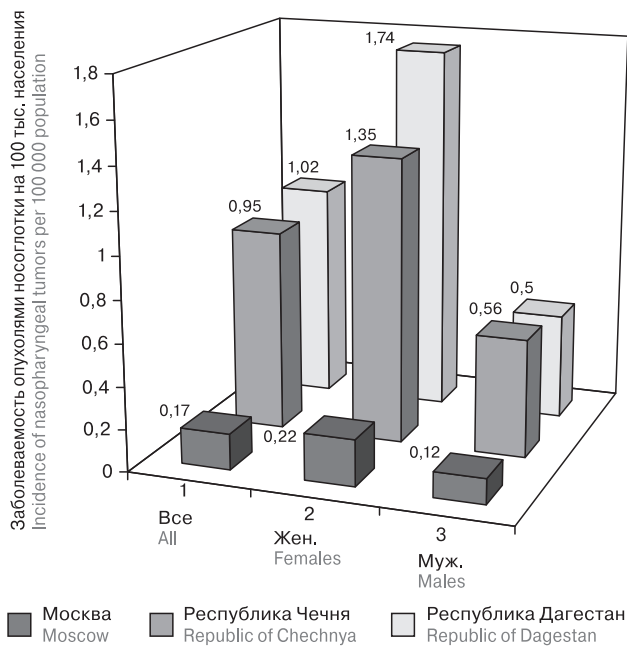


Рисунок 3. Сравнение показателей заболеваемости опухолями носоглотки (ОНГ) у населения Центрального федерального округа (ЦФО) и республик Дагестан и Чечня

Figure 3. Comparison of the nasopharyngeal tumor (NPT) incidences in the population of the Central Federal District (CFD) and the Republics of Dagestan and Chechnya

реактивностью их иммунной системы на ВЭБ, обусловленной отличающимися географическими и климатическими условиями проживания в этих регионах, особенностями быта, питания, воздействиями вредных факторов внешней среды и т.д. Высказанное предположение подтверждается рядом работ, обнаруживших отличающиеся уровни иммунного ответа к ВЭБ у больных РНГ^{ВЭБ} из разных стран и этнических групп [2]. Наши собственные исследования также позволили выявить различные уровни серологического ответа к ВЭБ у больных РНГ двух стран — России и Кубы [7].

Данные проведенного исследования также показали, что представители изученных географических регионов России инфицированы широким спектром штаммов ВЭБ, о чем свидетельствует полиморфизм LMP1 ампликонов, полученных из тестируемого нами биологического материала. При этом вариант LMP1, специфически ассоциированный с РНГ^{ВЭБ}, доминирующей формой опухолей носоглотки, нами не обнаружен. Это наблюдение позволяет прийти к выводу о том, что при наличии необходимых условий любой штамм ВЭБ с любым вариантом LMP1 может проявить свой онкогенный потенциал и стать этиологическим агентом РНГ^{ВЭБ}. Однако заражение штаммами ВЭБ с высокотрансформирующими варианта-

Таблица 2. Варианты LMP1 у больных РНГ*, ДОГШ и доноров крови — представителей географически удаленных регионов России**

Table 2. LMP1 variants in patients with NPC, OHNT and blood donors, representatives of geographically remote regions of Russia

| Число обследованных лиц/ число ампликонов LMP1 The number of examined persons/ the number of LMP1 amplicons | Варианты LMP1*** LMP1 variants | | | | |
|--|-----------------------------------|---------------|-------------|-------------|-----------|
| | B98.5/A**** (%) | China1 (%) | Med+ (%) | Med- (%) | NC (%) |
| Здоровые лица/Healthy individuals | | | | | |
| Московские доноры крови, Центральный федеральный округ/Moscow blood donors, Central Federal District | | | | | |
| 15/15 | 12 (80,0) | 1 (6,7) | – | – | 2 (13,3) |
| Больные раком носоглотки/Nasopharyngeal carcinoma patients | | | | | |
| Москва и Московская область, Центральный федеральный округ/Moscow and Moscow region, Central Federal District | | | | | |
| 15/11 | 1 (9,1) | 2 (18,2) | 4 (36,4) | 3 (27,3) | 1 (9,1) |
| Другие области, Центральный федеральный округ/Other regions of the Central Federal District | | | | | |
| 10/9 | 2 (22,2) | 4 (44,4) | 2 (22,2) | 1 (11,1) | – |
| Северо-Кавказский федеральный округ/The North Caucasian Federal District | | | | | |
| 28/24 | 3 (12,5) | 4 (16,7) | 10 (41,7) | 4 (16,7) | 3 (12,5) |
| Больные другими опухолями головы и шеи/Patients with other head and neck tumors | | | | | |
| Москва и Московская область, Центральный федеральный округ/Moscow and Moscow region, Central Federal District | | | | | |
| 25/17 | 5 (29,4) | 2 (11,8) | 2 (11,8) | 5 (29,4) | 3 (17,6) |
| Северо-Кавказский федеральный округ/The North Caucasian Federal District | | | | | |
| 11/6 | 1 (16,6) | 1 (16,6) | 2 (33,3) | 2 (33,3) | – |

Примечания. *РНГ — рак носоглотки; **ДОГШ — другие опухоли головы и шеи; ***LMP1 — латентный мембранный белок 1, кодируемый онкогеном LMP1 вируса Эпштейна–Барр; **** варианты LMP1 (B98.5/A и др.);
Notes. *NPC — nasopharyngeal carcinoma; **OHNT — other head and neck tumors; ***LMP1 — latent membrane protein 1, encoded by LMP1 oncogene of the Epstein–Barr virus; ****LMP1 variants (B98.5/A and others).

ми онкогена LMP1, по-видимому, создает у инфицированных лиц более реальную предпосылку для инициации ВЭБ-ассоциированного канцерогенеза и возникновения РНГ^{ВЭБ}. Подтверждением сказанному является ситуация в эндемичных по РНГ^{ВЭБ} южных провинциях Китая, где высокая заболеваемость РНГ сочетается с широким инфицированием населения ВЭБ, содержащим высокотрансформирующий вариант LMP1-Сао [4, 12].

Важным результатом проведенных исследований стала также впервые обнаруженная корреляция между усиленным гуморальным ответом к ВЭБ и повышенной заболеваемостью ОНГ, наблюдаемая у представителей СКФО. Полученные данные могут свидетельствовать в пользу генетической предрасположенности

населения СКФО к активной пролиферации вируса, стимулирующей канцерогенез и связанной с этим процессом повышенной заболеваемости РНГ^{ВЭБ}. Высказанное предположение, однако, нуждается в подтверждении наличия у жителей СКФО определенных вариантов HLA-гаплотипа, сочетающихся с предрасположенностью к РНГ^{ВЭБ}.

Благодарность

Авторы статьи выражают благодарность Министерству Здравоохранения России за дополнительное финансирование, а ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина — за предоставленные условия, необходимые для выполнения этого исследования.

Список литературы/References

1. Blake S.M., Eliopoulos A.G., Dawson C.W., Young L.S. The transmembrane domains of the EBV-encoded latent membrane protein 1 (LMP1) variant CAO regulate enhanced signalling activity. *Virology*, 2001, vol. 282, no. 2, pp. 278–287. doi: 10.1006/viro.2001.0828
2. De-The G., Lavoue M.F., Muenz L. Differences in EBV antibody titres of patients with nasopharyngeal carcinoma originating from high, intermediate and low incidence. *IARC Sci. Publ.* 1978, vol. 20, pp. 471–481.
3. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein–Barr virus strains. *Virology*, 1999, vol. 261, no. 1, pp. 79–95. doi: 10.1006/viro.1999.9855
4. Gratama J.W., Ernberg I. Molecular epidemiology of Epstein–Barr virus infection. *Adv. Cancer Res.*, 1995, vol. 67, pp. 197–255.
5. Guo L., Tang M., Yang L., Xiao L., Bode A.M., Li L., Dong Z., Cao Y. Epstein–Barr virus oncoprotein LMP1 mediates survivin upregulation by p53 contributing to G1/S cell cycle progression in nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Mol. Med.*, 2012, vol. 29, no. 4, pp. 574–580. doi: 10.3892/ijmm.2012.889
6. Gurtsevitch V.E., Iakovleva L.S., Shcherbak L.N. Goncharova E.V., Smirnova K.V., Diduk S.V., Kondratova V.N., Maksimovich D.M., Lichtenstein A.V., Senyuta N.B. The LMP1 oncogene sequence variations in patients with oral tumours associated or not associated with the Epstein–Barr virus. *Mol. Biol. (Mosk.)*, 2013, vol. 47, no. 6, pp. 987–995.
7. Gurtsevitch V., Ruiz R., Stepina V., Plachov I., Le Riverend E., Glazkova T., Lavoué M.F., Paches A., Aliev B., Mazurenko N. Epstein–Barr viral serology in nasopharyngeal carcinoma patients in the USSR and Cuba, and its value for differential diagnosis of the disease. *Int. J. Cancer*, 1986, vol. 37, no. 3, pp. 375–381.
8. Hahn P., Novikova E., Scherback L., Janik C., Pavlish O., Arkhipov V., Nicholls J., Müller-Lantzsch N., Gurtsevitch V., Grässer F.A. The LMP1 gene isolated from Russian nasopharyngeal carcinoma has no 30-bp deletion. *Int. J. Cancer*, 2001, vol. 91, no. 6, pp. 815–821.
9. Horikawa T., Yoshizaki T., Kondo S., Furukawa M., Kaizaki Y., Pagano J.S. Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 induces Snail and epithelial-mesenchymal transition in metastatic nasopharyngeal carcinoma. *Br. J. Cancer*, 2011, vol. 104, no. 7, pp. 1160–1167. doi: 10.1038/bjc.2011.38
10. Ji M.F., Yu Y.L., Cheng W.M., Zong Y.S., Ng P.S., Chua D.T., Ng M.H. Detection of stage I nasopharyngeal carcinoma by serologic screening and clinical examination. *Chin J. Cancer*, 2011, vol. 30, no. 2, pp. 120–123.
11. Johnson R.J., Stack M., Hazlewood S.A., Jones M., Blackmore C.G., Hu L.F., Rowe M. The 30-base-pair deletion in Chinese variants of the Epstein–Barr virus LMP1 gene is not the major effector of functional differences between variant LMP1 genes in human lymphocytes. *J. Virol.*, 1998, vol. 72, no. 5, pp. 4038–4048.
12. Lung M.L., Chang G.C. Detection of distinct Epstein–Barr virus genotypes in NPC biopsies from southern Chinese and Caucasians. *Int. J. Cancer*, 1992, vol. 52, no. 1, pp. 34–37.
13. Lung M.L., Lam W.P., Sham J., Choy D., Yong Sheng Z., Guo H.Y., Ng M.H. Detection and prevalence of the «f» variant of Epstein–Barr virus in southern China. *Virology*, 1991, vol. 185, no. 1, pp. 67–71.
14. Man C., Rosa J., Lee L.T., Lee V.H., Chow B.K., Lo K.W., Doxsey S., Wu Z.G., Kwong Y.L., Jin D.Y., Cheung A.L., Tsao S.W. Latent membrane protein 1 suppresses RASSF1A expression, disrupts microtubule structures and induces chromosomal aberrations in human epithelial cells. *Oncogene*, 2007, vol. 26, no. 21, pp. 3069–3080. doi: 10.1038/sj.onc.1210106
15. Nitta T., Chiba A., Yamamoto N., Yamaoka S. Lack of cytotoxic property in a variant of Epstein–Barr virus latent membrane protein-1 isolated from nasopharyngeal carcinoma. *Cell Signal*, 2004, vol. 16, no. 9, pp. 1071–1081. doi:10.1016/j.cellsig.2004.03.001
16. Rickinson A.B., Young L.S., Rowe M. Influence of the Epstein–Barr virus nuclear antigen EBNA 2 on the growth phenotype of virus-transformed B cells. *J. Virol.*, 1987, vol. 61, no. 5, pp. 1310–1317.
17. Tierney R.J., Steven N., Young L.S., Rickinson A.B. Epstein–Barr virus latency in blood mononuclear cells: analysis of viral gene transcription during primary infection and in the carrier state. *J. Virol.*, 1994, vol. 68, no. 11, pp. 7374–7385.
18. Tzello S., Farrell P.J. Epstein–Barr virus sequence variation-biology and disease. *Pathogens*, 2012, vol. 1, no. 2, pp. 156–174. doi: 10.3390/pathogens1020156

19. Wang D., Liebowitz D., Kieff E. An EBV membrane protein expressed in immortalized lymphocytes transforms established rodent cells. *Cell*, 1985, vol. 43, no. 3, pp. 831–840.
20. Young L.S., Dawson C.W., Eliopoulos A.G. The expression and function of Epstein–Barr virus encoded latent genes. *Mol. Pathol.*, 2000, vol. 53, no. 5, pp. 238–247.
21. Yu M.C., Yuan J.M. Epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Semin. Cancer Biol.* 2002, vol. 12, no. 6, pp. 421–429.
22. Zhou X.G., Sandvej K., Li P.J., Ji X.L., Yan Q.H., Zhang X.P., Da J.P., Hamilton-Dutoit S.J. Epstein–Barr virus gene polymorphisms in Chinese Hodgkin’s disease cases and healthy donors: identification of three distinct virus variants. *J. Gen. Virol.*, 2001, vol. 82, no. 5, pp. 1157–1167. doi: 10.1099/0022-1317-82-5-1157
23. Zhu X., Wang Y., Sun Y., Zheng J., Zhu D. MiR-155 up-regulation by LMP1 DNA contributes to increased nasopharyngeal carcinoma cell proliferation and migration. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 2014, vol. 271, no. 7, pp. 1939–1945. doi: 10.1007/s00405-013-2818-0

Авторы:

Сенюта Н.Б., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Игнатова А.В., аспирант отделения опухолей дыхательно-пищеварительных путей ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Ломая М.В., аспирант отдела опухолей головы и шеи ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Гончарова Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Щербак Л.Н., к.б.н., научный сотрудник лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Душенькина Т.Е., лаборант-исследователь лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Гугунов Д.В., к.б.н., врач-онколог поликлинического отделения ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Мудунов А.М., д.м.н., зав. отделением опухолей дыхательно-пищеварительных путей ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия;

Гурцевич В.Э., д.м.н., профессор, зав. лаборатории вирусного канцерогенеза ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, Москва, Россия.

Authors:

Senyuta N.B., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation;

Ignatova A.V., PhD Candidate, Department of The Tumors of Respiratory and Digestive Tract, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation;

Lomaya M.V., PhD Candidate, Department of the Head and Neck Tumors, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation;

Goncharova E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation;

Scherback L.N., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation;

Dushenkina T.E., Investigator (Biologist), Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation;

Gugunov D.V., PhD (Biology), Oncologist, Outpatient Department, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation;

Mudunov A.M., PhD, MD (Medicine), Head of the Department of Respiratory and Digestive Tract Tumors, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation;

Gurtsevitch V.E., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Viral Carcinogenesis, N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation.

ОСОБЕННОСТИ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ И СОСТОЯНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА

А.А. Савченко^{1,2}, И.И. Гвоздев¹, А.Г. Борисов^{1,2}, Д.В. Черданцев², О.В. Первова², И.В. Кудрявцев^{3,4,5}, А.В. Мошев¹

¹ ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия

² ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия

³ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия

⁵ ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Целью исследования явилось изучение фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных распространенным гнойным перитонитом (РГП) в динамике послеоперационного периода. Обследованы пациенты с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП. Забор крови производили перед операцией (дооперационный период), а также на 7, 14 и 24 сутки послеоперационного периода. Уровень фагоцитоза нейтрофилов определяли методом проточной цитометрии с помощью FITC-меченного стафилококкового белка А. Подсчитывали процент флуоресцирующих нейтрофилов (определяли как фагоцитарный индекс — ФИ) и средний уровень флуоресценции клеток (фагоцитарное число — ФЧ). По интенсивности флуоресценции разделяли нейтрофилы на активно фагоцитирующие (с высоким уровнем ФЧ) и слабо фагоцитирующие (с низким уровнем ФЧ). Состояние респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов исследовали с помощью хемилюминесцентного анализа. Установлено, что у больных РГП уже в дооперационном периоде повышена фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов крови. Максимум фагоцитарной активности наблюдается на 7 сутки послеоперационного периода и к 24 суткам количество фагоцитирующих клеток снижается до контрольного уровня, тогда как фагоцитарная активность клеток остается на дооперационном уровне. В дооперационном периоде у больных РГП количество активно фагоцитирующих нейтрофилов крови в 3,3 раза превышает число слабо фагоцитирующих клеток. К концу периода наблюдения количество активно и слабо фагоцитирующих нейтрофилов нормализуется. При исследовании состояния респираторного взрыва в нейтрофилах больных РГП

Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12,
ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН.
Тел.: (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Contacts:

Igor V. Kudryavtsev
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Akademika Pavlova str., 12,
Scientific Research Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Библиографическое описание:

Савченко А.А., Гвоздев И.И., Борисов А.Г., Черданцев Д.В.,
Первова О.В., Кудрявцев И.В., Мошев А.В. Особенности фагоцитарной
активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов крови
у больных распространенным гнойным перитонитом в динамике
послеоперационного периода // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1.
С. 51–60. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-51-60

Citation:

Savchenko A.A., Gvozdev I.I., Borisov A.G., Cherdancev D.V., Pervova O.V.,
Kudryavcev I.V., Moshev A.V. Features of the phagocytic activity and
respiratory burst state of blood neutrophils of patients with widespread
purulent peritonitis in the dynamics of the postoperative period // Russian
Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1,
pp. 51–60. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-51-60

обнаружено, что уровень синтеза первичных активных форм кислорода (АФК) возрастает только с 7 суток послеоперационного периода и индуцированная активность НАДФН-оксидазы остается повышенной к концу периода наблюдения. В то же время, синтез вторичных АФК в нейтрофилах крови больных РГП повышен уже в дооперационном периоде и остается высоким до конца обследования. С помощью корреляционного анализа установлено, что, если у здоровых людей выявляются конкурентные взаимосвязи между уровнем синтеза первичных АФК и активностью фагоцитоза, то все обнаруженные корреляционные связи у больных РГП характеризуют высокий уровень скоординированности между респираторным взрывом и фагоцитарной активностью нейтрофилов. Указанные взаимосвязи выявляются только в дооперационном периоде, в послеоперационном периоде — отсутствуют. Можно предположить, что оперативное вмешательство и последующее лечение приводят к полной дискоординации в нейтрофилах крови механизмов фагоцитоза и респираторного взрыва.

Ключевые слова: перитонит, динамика послеоперационного периода, нейтрофилы, фагоцитоз, респираторный взрыв, активные формы кислорода.

PHAGOCYtic ACTIVITY AND BLOOD NEUTROPHILS RESPIRATORY BURST STATE FEATURES AMONGST WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS PATIENTS IN THE POSTOPERATIVE PERIOD DYNAMICS

Savchenko A.A.^{a,b}, Gvozdev I.I.^a, Borisov A.G.^{a,b}, Cherdancev D.V.^b, Pervova O.V.^b, Kudryavcev I.V.^{c,d,e}, Moshev A.V.^a

^a Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation

^c Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^d Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

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

Abstract. The research aim was to study the phagocytic activity and the blood neutrophils respiratory burst state amongst the patients with widespread purulent peritonitis (WPP) in the dynamics of the postoperative period. The study was involved patients with acute surgical diseases and injuries of the abdominal organs complicated by WPP. Blood sampling was performed prior to surgery (pre-operative period) and at 7, 14 and 24 day post-operative period. The neutrophil phagocytosis level was determined by flow cytometry using FITC-labeled staphylococcal protein A. There was counted the percentage of fluorescent neutrophils (defined as the phagocytic index — PI) and average of the cell fluorescence (phagocytic number — PN). According to the fluorescence intensity divided phagocytic neutrophils in an active (high PN) and weakly phagocytic (low PN). Condition of the respiratory burst in the neutrophils was examined using a chemiluminescent assay. It was found that patients with WPP in the preoperative period had increased phagocytic activity of the blood neutrophils. The maximum phagocytic activity observed on day 7 of the postoperative period and by 24 days the number of phagocytic cells is reduced to control level whereas phagocytic activity of the cells remains at the preoperative level. In the preoperative period in patients with WPP the amount of active phagocytic blood neutrophils 3.3 times higher than the number of weakly phagocytic cells. By the end of the observation period the number of active and weakly phagocytic neutrophils returning to normal. In the study of the state of respiratory burst in the neutrophils by the WPP patients discovered that the primary synthesis levels of reactive oxygen species (ROS) increases only with 7 days of postoperative period and the induced activity of NADPH-oxidase remains elevated to the end of the observation period. At the same time, the synthesis of secondary ROS in the blood neutrophil of the WPP patients increased already in the preoperative period and remains high until the end of the survey. Using correlation analysis it was found that if healthy people had a competitive relationship between the level of synthesis of primary ROS and the activity of phagocytosis then all detected correlations in the WPP patients characterized by high level of coordination between the respiratory burst and the phagocytic activity of the neutrophils. These relationships are identified in the preoperative period, postoperatively do not exist. It can be assumed that the surgery and the subsequent treatment leads to complete incoordination in the neutrophils the mechanisms of phagocytosis and respiratory burst.

Key words: peritonitis, dynamics of the postoperative period, neutrophils, phagocytosis, respiratory burst, reactive oxygen species.

Введение

Течение инфекционного процесса в брюшной полости при распространенном гнойном перитоните (РГП), характер и особенности развития гнойных послеоперационных осложнений определяются не только тяжестью основного заболевания и полнотой проводимой интенсивной терапии, но и во многом зависят от характера изменений в иммунной системе

пациента [1, 3, 16]. Доказано, что у больных РГП дисфункция иммунной системы наблюдается чаще, чем несостоятельность любой другой органной системы [4]. Системная иммунодепрессия нарастает параллельно с манифестацией признаков системной воспалительной реакции, которая клинически может маскировать факт ее развития и углубления. В действительности тяжелая дисфункция иммунной системы является не просто ранним и надежным признаком

развивающейся полиорганной недостаточности (ПОН), но и в значительной степени обеспечивает ее возникновение и последующее прогрессирование [4, 9, 19].

Нейтрофильные гранулоциты являются ключевыми клетками воспаления, представляют собой высокорепродуктивное звено в иммунной системе. Они первыми мобилизуются в очаг воспаления, от их фагоцитарной активности во многом зависит эффективность противомикробной защиты организма [5, 7, 21]. Воспринимаемая многочисленными сигналами о дестабилизации внутренней среды, нейтрофилы модулируют свои функции, нацеленные на ее восстановление. Активированные нейтрофилы сами становятся мощными эффекторами пусковых и регуляторных механизмов каскадных реакций, обеспечивающих развитие воспаления. Это связано с тем, что нейтрофильные гранулоциты способны не только в качестве эффекторов продуцировать цитотоксические молекулы, но и, как регуляторные клетки, синтезировать широкий спектр различных цитокинов [4, 10, 11]. В связи с этим, изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов позволит на клеточном уровне охарактеризовать особенности генеза воспалительных процессов при такой тяжелой хирургической патологии как РГП.

Хемилюминесцентная активность характеризует состояние респираторного взрыва нейтрофилов, который развивается при взаимодействии клеток с объектами фагоцитоза [5]. Обсуждается значение синтеза ряда активных форм кислорода (АФК) в системе внешнего киллинга [14, 18]. В связи с этим, изучение особенностей фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов у больных РГП позволит охарактеризовать механизмы воспалительного процесса, его регуляцию и в дальнейшем разработать методы прогноза характера течения и исхода заболевания.

Целью исследования явилось изучение фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

Материалы и методы

На базе Красноярского краевого гнойно-септического центра КГБУЗ «Краевая клиническая больница» обследовано 27 пациентов с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП, в возрасте 30–65 лет. Из исследования были исключены пациенты, у которых причиной РГП являлись: острый деструктивный панкреатит (панкреонекроз), тотальный мезентериальный тромбоз, онкологические заболевания, туберкулез. Объем оперативного вмешательства и количество санаций определялись лечащим врачом в зависимости от состояния больного. Забор

крови производили перед операцией (дооперационный период), а также на 7, 14 и 24 сутки послеоперационного периода. В качестве контроля обследовано 67 относительно здоровых людей аналогичного возрастного диапазона.

Уровень фагоцитоза нейтрофилов определяли методом проточной цитометрии с помощью FITC-меченного стафилококкового белка А [2]. Конъюгацию выполняли следующим образом: к стафилококковому белку А (разведен в бикарбонатном буфере, рН = 9,0) добавляли FITC (предварительно растворяли в ДМСО до концентрации 1 мкг/мл), инкубировали в темноте в течение 1 ч, трижды отмывали и по стандарту мутности доводили концентрацию белка до 1 млн/мл. К 100 мкл гепаринизированной крови добавляли 10 мкл FITC-меченного белка А и инкубировали 30 мин при температуре 37°C. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием реагента «VersaLyse» (Beckman Coulter, США). Для гашения адгезированного на поверхности нейтрофилов FITC-меченного белка А к суспензии клеток добавляли раствор трипанового синего (0,2 мг/мл). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC-500» (Beckman Coulter, США). В каждой пробе анализировали не менее 50 000 нейтрофилов. Подсчитывали процент флуоресцирующих нейтрофилов (определяли как фагоцитарный индекс — ФИ) и средний уровень флуоресценции клеток (фагоцитарное число — ФЧ). По интенсивности флуоресценции разделяли нейтрофилы на активно фагоцитирующие (с высоким уровнем ФЧ) и слабо фагоцитирующие (с низким уровнем ФЧ).

Состояние респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов исследовали с помощью хемилюминесцентного анализа [6]. В качестве индикаторов хемилюминесценции использовали люминол и люцигенин. Оценка спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции осуществлялась в течение 90 мин на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе «CL3606» (Россия). Определяли следующие характеристики: время выхода на максимум (T_{max}), максимальное значение интенсивности (I_{max}), а также площадь под кривой (S) хемилюминесценции. Усиление хемилюминесценции, индуцированной зимозаном, оценивали отношением площади индуцированной хемилюминесценции ($S_{инд}$) к площади спонтанной ($S_{сп}$) и определяли как индекс активации ($S_{инд}/S_{сп}$).

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C₂₅ и C₇₅). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Результаты

Исследование фагоцитарной активности общей фракции нейтрофилов крови позволило установить, что уже в дооперационном периоде у больных РГП относительно контрольных значений ФИ повышается в 2,4 раза (p < 0,001), ФЧ — в 2,6 раза (p < 0,001). Максимального уровня фагоцитарная активность нейтрофилов у больных РГП достигает на 7 сутки послеоперационного периода и затем к 24 суткам снижается до контрольного диапазона по ФИ (p > 0,05), тогда как ФЧ в этот же период наблюдения превышает контрольные значения в 2,5 раза (p < 0,001).

При разделении общей фракции нейтрофилов на активно и слабо фагоцитирующие обнаружено, что процент активно фагоцитирующих клеток у больных РГП в дооперационном периоде в 2,1 раза превышает контрольные значения, тогда как ФИ слабо фагоцитирующих нейтрофилов у обследованных пациентов в 2,7 раза ниже, чем у лиц контрольной группы (табл. 1). При этом ФЧ у активно и слабо фагоцитирую-

щих нейтрофилов у больных РГП значительно превышает контрольный диапазон. На 7 сутки послеоперационного периода у больных наблюдается сохранение активности фагоцитоза для активно фагоцитирующих нейтрофилов. В этот период наблюдения ФИ для слабо фагоцитирующих клеток у пациентов с РГП в 2,1 ниже, чем у лиц контрольной группы, но при сохранении высоких значений ФЧ. На 14 сутки после операции у обследованных пациентов ФИ активно фагоцитирующих нейтрофилов уже соответствует контрольным значениям, тогда как ФЧ остается повышенным. Подобные изменения выявляются и для слабо фагоцитирующих клеток: ФИ повышается до уровня контрольного диапазона, значения ФЧ сохраняются на высоком уровне. На 24 сутки после операции у больных ФИ и ФЧ активно фагоцитирующих нейтрофилов соответствуют контрольным уровням. В этот же период наблюдения значения ФИ слабо фагоцитирующих клеток у больных РГП также соответствуют контрольному уровню, тогда как значения ФЧ остаются значительно повышенными.

В дооперационном периоде и на 7 сутки после операции показатели спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов больных РГП соответствовали контрольным значениям (табл. 2). На 14 сутки обследования у больных РГП в 2,4 раза увеличивается площадь под кривой хемилюминесценции. На 24 сутки у больных выявляется снижение максимума интенсивности спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции относительно контрольных значений и понижение до контрольного уровня площади под кривой хемилюминесценции.

Таблица 1. Фагоцитарный индекс и фагоцитарное число активно и слабо фагоцитирующих нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅–C₇₅)

Table 1. Phagocytic index (PI) and phagocytic number (PN) of neutrophils (Ne) with high and low phagocytic activity from patients with widespread purulent peritonitis (WPP) during the postoperative period (Me, C₂₅–C₇₅)

| Группы Groups | | Активно фагоцитирующие Ne with high phagocytic activity | | | | Слабо фагоцитирующие Ne with low phagocytic activity | | | |
|---|--------|--|----------------------------------|--|----------------------------------|---|----------------------------------|------------------------|----------------------------------|
| | | ФИ/PI, % | | ФЧ/PN | | ФИ/PI, % | | ФЧ/PN | |
| | | Me | C ₂₅ –C ₇₅ | Me | C ₂₅ –C ₇₅ | Me | C ₂₅ –C ₇₅ | Me | C ₂₅ –C ₇₅ |
| Контроль/Healthy control | n = 67 | 36,82 | 9,14–67,75 | 113,0 | 52,7–205,5 | 64,04 | 29,41–75,19 | 2,4 | 1,9–5,6 |
| Больные РГП/Patients with WPP | | | | | | | | | |
| Дооперационный период Before surgery | n = 27 | 76,21 | 39,81–91,22 | 249,0 | 202,1–319,2 | 23,42 | 18,71–59,15 | 45,3 | 37,6–52,2 |
| | | p ₁ < 0,001 | | p ₁ = 0,002 | | p ₁ < 0,001 | | p ₁ < 0,001 | |
| 7 сутки после операции 7 days post surgery | n = 25 | 71,44 | 45,41–83,62 | 345,5 | 199,5–428,5 | 22,52 | 15,78–52,26 | 49,6 | 38,5–58,7 |
| | | p ₁ = 0,012 | | p ₁ < 0,001 | | p ₁ = 0,022 | | p ₁ < 0,001 | |
| 14 сутки после операции 14 days post surgery | n = 21 | 55,13 | 53,99–74,60 | 214,0 | 211,0–253,0 | 43,32 | 25,17–43,98 | 50,7 | 50,0–54,1 |
| | | | | p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,048 | | | | p ₁ = 0,002 | |
| 24 сутки после операции 24 days post surgery | n = 21 | 65,29 | 56,67–75,46 | 187,0 | 186,8–281,1 | 33,75 | 24,36–39,71 | 45,6 | 34,7–54,8 |
| | | | | p ₂ = 0,034 | | | | p ₁ = 0,034 | |

Примечание: p₁ — статистически значимые различия с контрольными значениями; p₂ — статистически значимые различия с показателями больных РГП на 7 сутках после операции.

Note: p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus 7 days post surgery patients with WPP.

Таблица 2. Спонтанная люцигенин-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅–C₇₅)Table 2. Spontaneous lucigenin-dependent chemiluminescence (LDCL) of neutrophil activity from patients with WPP during the postoperative period (Me, C₂₅–C₇₅)

| Группы Groups | | T _{max} , c/sec. | | I _{max} , о.е. × 10 ³ | | S, о.е. × c/sec. × 10 ⁵ | |
|---|--------|---------------------------|----------------------------------|---|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| | | Me | C ₂₅ –C ₇₅ | Me | C ₂₅ –C ₇₅ | Me | C ₂₅ –C ₇₅ |
| Контроль/Healthy control | n = 67 | 2380 | 1698–3541 | 7,26 | 2,92–15,05 | 3,12 | 1,06–6,91 |
| Больные РГП/Patients with WPP | | | | | | | |
| Дооперационный период Before surgery | n = 27 | 1775 | 1302–2921 | 5,57 | 1,21–14,08 | 4,98 | 1,09–16,00 |
| 7 сутки после операции 7 days post surgery | n = 25 | 1694 | 1126–2551 | 7,36 | 2,56–17,23 | 4,75 | 2,85–12,00 |
| 14 сутки после операции 14 days post surgery | n = 21 | 1844 | 891–4115 | 8,46 | 1,5–12,43 | 7,63 | 2,12–11,5 |
| | | | | | | p ₁ < 0,001 | |
| 24 сутки после операции 24 days post surgery | n = 21 | 2300 | 1865–3444 | 3,02 | 2,08–5,61 | 3,58 | 2,31–10,92 |
| | | | | p ₃ = 0,048 | | p ₂ = 0,036 | |

Примечание: статистически значимые различия: p₁ — с показателями контрольной группы; p₂ — с показателями дооперационного периода; p₃ — с показателями 14 суток после операции.

Note: p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery; p₃ — statistically significant differences versus 14 days post surgery patients with WPP. T_{max} — time to maximum, I_{max} — maximum intensity value, reflecting the maximum reactive oxygen species level synthesis, S — the area under the curve, describing total synthesis of reactive oxygen species during 90 min.

В дооперационном периоде у больных РГП показатели зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов соответствуют контрольному диапазону (табл. 3). На 7 сутки после операции у обследованных пациентов в 2,4 раза повышается максимум интенсивности относительно контрольного диапазона и увеличивается площадь под кривой хемилюминесценции, как относительно контрольных значений, так и диапазона, выявляемого у больных в дооперационном периоде. На 14 сутки обследования обнаружено превышение в 1,5 раза только площади под кривой хемилюминесцен-

ции. На 24 сутки обследования наблюдается понижение в 3,9 раза максимума интенсивности зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции относительно значений, выявленных у больных РГП до операции, а также более высокая величина площади под кривой хемилюминесценции, чем у лиц контрольной группы. Кроме того, в этот период обследования при РГП повышен индекс активации относительно величин, выявленных в дооперационном периоде и на 14 сутки после операции.

При исследовании спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов

Таблица 3. Зимозан-индуцированная люцигенин-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅–C₇₅)Table 3. Zymosan-induced LDCL of neutrophil activity from patients with WPP during the postoperative period (Me, C₂₅–C₇₅)

| Группы | | T _{max} , c/sec. | | I _{max} , о.е. × 10 ³ | | S, о.е. × c/sec. × 10 ⁵ | | S _{инд} /S _{сп} S _{инд} /S _{сп} | |
|---|--------|---------------------------|----------------------------------|---|----------------------------------|--|----------------------------------|--|----------------------------------|
| | | Me | C ₂₅ –C ₇₅ | Me | C ₂₅ –C ₇₅ | Me | C ₂₅ –C ₇₅ | Me | C ₂₅ –C ₇₅ |
| Контроль/Healthy control | n = 67 | 2046 | 1620–2710 | 11,75 | 7,58–27,71 | 4,85 | 2,94–9,94 | 1,76 | 1,12–3,19 |
| Больные РГП | | | | | | | | | |
| Дооперационный период Before surgery | n = 27 | 1748 | 1489–2653 | 7,84 | 3,41–27,30 | 8,96 | 2,14–28,00 | 1,79 | 1,13–2,51 |
| 7 сутки после операции 7 days post surgery | n = 25 | 1706 | 1485–2016 | 28,32 | 14,79–50,56 | 25,8 | 16,44–27,90 | 4,62 | 1,46–8,22 |
| | | | | p ₁ = 0,033 | | p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,012 | | | |
| 14 сутки после операции 14 days post surgery | n = 21 | 1533 | 708–4888 | 7,85 | 2,48–17,43 | 7,33 | 1,65–12,10 | 1,29 | 0,69–2,11 |
| | | | | | | p ₁ < 0,001 | | | |
| 24 сутки после операции 24 days post surgery | n = 21 | 2253 | 1622–3756 | 7,31 | 4,78–12,82 | 10,81 | 8,76–13,50 | 3,28 | 1,40–4,99 |
| | | | | p ₂ = 0,036 | | p ₁ = 0,013 | | p ₂ = 0,049 p ₃ = 0,047 | |

Примечание: статистически значимые различия: p₁ — с показателями контрольной группы; p₂ — с показателями дооперационного периода; p₃ — с показателями 14 суток после операции.

Note: p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery; p₃ — statistically significant differences versus 14 days post surgery patients with WPP. T_{max} — time to maximum, I_{max} — maximum intensity value, reflecting the maximum reactive oxygen species level synthesis, S — the area under the curve, describing total synthesis of reactive oxygen species during 90 min. S_{инд}/S_{сп} — the ration between zymosan-induced and spontaneous LDCL.

Таблица 4. Спонтанная люминол-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофилов больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅-C₇₅)

Table 4. Spontaneous LDCL activity of neutrophils from patients with WPP during the postoperative period (Me, C₂₅-C₇₅)

| Группы | | T _{max} , c/sec. | | I _{max} , o.e. × 10 ³ | | S, o.e. × c/sec. × 10 ⁵ | |
|---|--------|---------------------------|----------------------------------|---|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| | | Me | C ₂₅ -C ₇₅ | Me | C ₂₅ -C ₇₅ | Me | C ₂₅ -C ₇₅ |
| Контроль/Healthy control | n = 67 | 1009 | 615-1583 | 8,97 | 3,26-22,48 | 2,74 | 1,13-7,32 |
| Больные РГП/Patients with WPP | | | | | | | |
| Дооперационный период Before surgery | n = 27 | 1804 | 1133-2398 | 32,72 | 8,79-44,61 | 23,51 | 7,68-48,7 |
| | | p ₁ = 0,005 | | p ₁ = 0,005 | | p ₁ < 0,001 | |
| 7 сутки после операции 7 days post surgery | n = 25 | 1535 | 1324-2685 | 31,05 | 19,86-46,29 | 44,25 | 29,65-58,3 |
| | | p ₁ = 0,027 | | p ₁ = 0,002 | | p ₁ < 0,001 | |
| 14 сутки после операции 14 days post surgery | n = 21 | 1589 | 644-2020 | 36,73 | 14,47-46,13 | 20,91 | 9,59-29,6 |
| | | p ₁ = 0,041 | | p ₁ = 0,008 | | p ₁ < 0,001 | |
| 24 сутки после операции 24 days post surgery | n = 21 | 2004 | 1511-3106 | 27,91 | 12,32-43,26 | 3,58 | 2,31-10,92 |
| | | p ₁ = 0,014 | | p ₁ = 0,029 | | p ₂ = 0,049 | |

Примечание: статистически значимые различия: p₁ — с показателями контрольной группы; p₂ — с показателями дооперационного периода.

Note: p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery.

T_{max} — time to maximum, I_{max} — maximum intensity value, reflecting the maximum reactive oxygen species level synthesis, S — the area under the curve, describing total synthesis of reactive oxygen species during 90 min.

у больных РГП в дооперационном периоде в 1,8 раза удлиняется время выхода на максимум, в 3,6 раза повышается максимум интенсивности и в 8,6 раз площадь под кривой хемилюминесценции (табл. 4). На 7 и 14 сутки послеоперационного периода все эти показатели остаются повышенными. На 24 сутки обследования также обнаружено повышение времени выхода на максимум и максимума интенсивности спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов относительно контрольных значений, но при снижении площади под кривой хемилюминесценции до контрольного уровня.

При исследовании показателей зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов обнаружено, что у больных РГП в доопера-

ционном периоде в 3,4 раза повышен максимум интенсивности и в 9,7 раза площадь под кривой хемилюминесценции относительно показателей контрольной группы (табл. 5). Подобные особенности данного типа хемилюминесценции выявляются и на 7 сутки послеоперационного периода. На 14 сутки обследования у больных РГП при сохранении повышенных значений максимума интенсивности и площади под кривой хемилюминесценции удлиняется время выхода на максимум относительно контрольного диапазона. На 24 сутки обследования у больных максимум интенсивности в 2,2 раза превышает контрольный диапазон, тогда как площадь под кривой хемилюминесценции — в 10,0 раз. Сохраняется более длительный период выхода на максимум хемилюминесценции, чем у лиц контрольной группы.

Таблица 5. Зимозан-индуцированная люминол-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофилов больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅-C₇₅)

Table 5. Zymosan-induced LDCL activity of neutrophils from patients with WPP during the postoperative period (Me, C₂₅-C₇₅)

| Группы | | T _{max} , c/sec. | | I _{max} , o.e. × 10 ³ | | S, o.e. × c/sec. × 10 ⁵ | | S _{инд} /S _{сп} S _{инд} /S _{сп} | |
|---|--------|---------------------------|----------------------------------|---|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|--|----------------------------------|
| | | Me | C ₂₅ -C ₇₅ | Me | C ₂₅ -C ₇₅ | Me | C ₂₅ -C ₇₅ | Me | C ₂₅ -C ₇₅ |
| Контроль/Healthy control | n = 67 | 1122 | 814-1526 | 18,02 | 7,02-36,56 | 5,82 | 2,08-12,7 | 1,73 | 1,33-2,53 |
| Больные РГП/Patients with WPP | | | | | | | | | |
| Дооперационный период Before surgery | n = 27 | 1549 | 684-2035 | 60,93 | 19,24-108,02 | 56,65 | 17,5-104 | 2,28 | 1,52-3,00 |
| | | p ₁ = 0,002 | | p ₁ < 0,001 | | | | | |
| 7 сутки после операции 7 days post surgery | n = 25 | 1230 | 878-1604 | 78,36 | 54,87-97,24 | 66,21 | 57,3-127,5 | 2,43 | 1,09-3,62 |
| | | p ₁ < 0,001 | | p ₁ < 0,001 | | | | | |
| 14 сутки после операции 14 days post surgery | n = 21 | 1559 | 1130-1889 | 48,14 | 36,72-68,69 | 46,41 | 21,6-62,9 | 1,27 | 1,13-3,13 |
| | | p ₁ = 0,028 | | p ₁ = 0,010 | | p ₁ < 0,001 | | | |
| 24 сутки после операции 24 days post surgery | n = 21 | 1720 | 1127-2563 | 39,46 | 23,55-80,77 | 58,23 | 38,06-89,3 | 1,74 | 1,26-2,06 |
| | | p ₁ = 0,032 | | p ₁ = 0,038 | | p ₁ < 0,001 | | | |

Примечание: p₁ — статистически значимые различия с показателями контрольной группы.

Note: p₁ — statistically significant differences versus controls. T_{max} — time to maximum, I_{max} — maximum intensity value, reflecting the maximum reactive oxygen species level synthesis, S — the area under the curve, describing total synthesis of reactive oxygen species during 90 min.

S_{инд}/S_{сп} — the ration between zymosan-induced and spontaneous LDCL.

При исследовании взаимосвязи между показателями фагоцитарной активности и респираторного взрыва установлено, что у лиц контрольной группы процент фагоцитирующих нейтрофилов отрицательно взаимосвязан с интенсивностью зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = -0,38$, $p = 0,024$) и положительно — со временем выхода на максимум индуцированной люцигенин-зависимой ($r = 0,57$, $p < 0,001$) и люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,38$, $p = 0,019$). ФИ активно фагоцитирующих нейтрофилов положительно коррелирует со временем выхода на максимум спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,39$, $p = 0,016$), тогда как ФЧ данной фракции клеток отрицательно взаимосвязана с максимумом интенсивности индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции ($r = -0,37$, $p = 0,026$) и положительно — со временем выхода на максимум этой же кривой ($r = 0,44$, $p = 0,007$). Кроме того, у лиц контрольной группы время выхода на максимум спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов положительно взаимосвязано с ФЧ слабо фагоцитирующих клеток ($r = 0,43$, $p = 0,008$).

У больных РГП обнаружено меньшее количество взаимосвязей между показателями фагоцитарной активности и респираторного взрыва нейтрофилов. При этом с показателями респираторного взрыва коррелируют только параметры фагоцитоза активно и слабо фагоцитирующих клеток. Так, у обследованных пациентов ФЧ активно фагоцитирующих клеток положительно взаимосвязано максимумом интенсивности спонтанной ($r = 0,73$, $p = 0,025$) и зимозан-индуцированной ($r = 0,75$, $p = 0,020$) люцигенин-зависимой хемилюминесценции, а также с площадью под кривой, индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,72$, $p = 0,030$). ФЧ активно фагоцитирующих нейтрофилов отрицательно коррелирует со временем выхода на максимум спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции ($r = -0,68$, $p = 0,042$), тогда как ФЧ слабо фагоцитирующих клеток — положительно с максимумом интенсивности спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,73$, $p = 0,025$). В послеоперационном периоде взаимосвязей между показателями фагоцитарной активности и уровнем респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных РГП не обнаружено.

Обсуждение

Нейтрофильные гранулоциты играют ведущую роль в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний, в том числе и при РГП [4, 19, 21]. Установлено, что фагоцитарная активность нейтрофилов в дооперационном периоде у больных РГП значительно повышена. Причем значительно увеличивается не только

количество фагоцитирующих нейтрофилов в крови, но и активность собственно фагоцитоза (исходя из величины ФЧ). Активность фагоцитоза при РГП достигает максимума на 7 сутки послеоперационного периода и к 24 суткам количество фагоцитирующих нейтрофилов крови снижается до контрольного диапазона. Однако фагоцитарная активность нейтрофилов крови у больных РГП остается практически на уровне дооперационного периода. Выявленные особенности динамики количества и активности фагоцитирующих нейтрофилов при РГП определяются лечением и, соответственно, клиническим состоянием больных в послеоперационном периоде [3, 4]. За счет снижения количества лейкоцитов в периферической крови обследованных пациентов понижается уровень нейтрофильных гранулоцитов и, соответственно, количество фагоцитирующих клеток, но при сохранении высокой функциональной активности.

При реализации цитометрического протокола оценки фагоцитарной активности нейтрофилов было обнаружено, что общая фракция клеток, исходя из значений ФЧ, делится на две субпопуляции. В связи с этим, все фагоцитирующие нейтрофилы были разделены на фракции: активно фагоцитирующие клетки и слабо фагоцитирующие. Действительно, субпопуляционная гетерогенность нейтрофильных гранулоцитов отмечена в ряде исследований [8, 13, 15, 17]. Доказано, что различные субпопуляции нейтрофилов по разному реализуют свою функциональную активность при воспалительных и онкологических заболеваниях. В целом, выделяют фракции нейтрофилов с преимущественно эффекторной функцией (фагоцитоз) и регуляторные (синтезирующие различные цитокины).

Нами обнаружено, что у здоровых лиц (группа контроля) в периферической крови преобладают слабо фагоцитирующие нейтрофилы (в 1,7 раза), у больных РГП в до- и послеоперационном периоде — активно фагоцитирующие клетки (в 3,3 раза в дооперационном периоде и в 1,3 раза на 14 сутки послеоперационного периода). Количество активно фагоцитирующих нейтрофилов крови у больных РГП в дооперационном периоде и на 7 сутки послеоперационного периода превышает контрольные показатели, на 14 и 24 сутки после операции — соответствуют контрольному уровню. При этом активность фагоцитоза для клеток данной фракции у обследованных пациентов нормализуется только к 24 суткам послеоперационного периода. Количество слабо фагоцитирующих нейтрофилов крови при РГП в дооперационном периоде и на 7 сутки после операции снижено по сравнению с контрольными значениями. С 14 суток послеоперационного периода их количество нормализуется. Однако фагоцитарная активность данной фракции нейтрофилов остается значительно повышенной относительно контрольных значений на весь период наблюдений.

Активность респираторного взрыва нейтрофилов определяется уровнями синтеза первичных и вторичных АФК и опосредует процессы фагоцитоза и киллинга [4, 6, 18]. Состояние респираторного взрыва было исследовано с помощью двух хемилюминесцентных индикаторов: люцигенина и люминола. Люцигенин окисляется и люминесцирует только под влиянием супероксид-радикала, который определяется как первичная АФК и синтезируется в системе НАДФН-оксидазы [12, 20]. Люцигенин не проходит через мембрану клеток и связывается с супероксид-радикалом только во внеклеточном пространстве. Соответственно, исследование люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов позволяет охарактеризовать состояние активности НАДФН-оксидазы и уровень выделения супероксид-радикала для реализации механизма внешнего киллинга у больных РГП.

У больных РГП в дооперационном периоде уровень синтеза супероксид-радикала нейтрофилами крови соответствует контрольным значениям. На 7 сутки послеоперационного периода выявляется повышение индуцированной активности НАДФН-оксидазы под действием опсонизированного зимозана. На 14 сутки послеоперационного периода наблюдается повышение спонтанной и индуцированной активности НАДФН-оксидазы в нейтрофильных гранулоцитах больных РГП. На 24 сутки выявляется снижение основных интегральных характеристик активности НАДФН-оксидазы в клетках больных РГП до уровней контрольных значений. Следовательно, уровень синтеза наиболее бактерицидной формы АФК — супероксид-радикала — нейтрофилами крови у больных РГП в дооперационном периоде соответствует контрольным значениям, достигает максимума на 14 сутки послеоперационного периода и к концу периода наблюдения снижается до уровней контрольного диапазона.

В формировании пула вторичных АФК в нейтрофильных гранулоцитах принимают участие такие ферменты, как супероксиддисмутаза, каталаза, миелопероксидаза и др. [4, 6, 7]. Для оценки интенсивности синтеза вторичных АФК нейтрофилами крови нами использовалась люминол-зависимая хемилюминесценция. Необходимо отметить, что люминол способен вступать в хемилюминесцентную реакцию как с первичными, так и со вторичными АФК [4, 6].

При исследовании люминол-зависимой хемилюминесценции обнаружено, что уже в дооперационном периоде уровень спонтанного и индуцированного синтеза вторичных АФК нейтрофилами крови у больных РГП значительно повышен. При этом удлиняется время выхода на максимум спонтанной хемилюминесценции. Данный показатель характеризует скорость развития респираторного взрыва от момента регуляторного или антигенного воздействия

на клетку до максимальной активации ферментов, синтезирующих АФК [4, 5]. Интенсивность спонтанного синтеза вторичных АФК нейтрофилами при РГП снижается до контрольного уровня к 24 суткам послеоперационного периода. При индукции зимозаном высокий уровень синтеза сохраняется весь период наблюдения.

С помощью корреляционного анализа установлено, что у здоровых людей активность НАДФН-оксидазы, индуцированная зимозаном, и, соответственно, синтез супероксид-радикала отрицательно взаимосвязана с ФИ общей фракции нейтрофилов крови и ФЧ активно фагоцитирующих клеток, что указывает на конкурентные механизмы синтеза первичных АФК и фагоцитарной активности нейтрофилов. В то же время показатели фагоцитарной активности (ФИ и ФЧ) положительно коррелируют с временем выхода на максимум спонтанной и индуцированной люцигенин- и люминол-зависимой реакции, что также определяет увеличение времени развития респираторного взрыва при высокой фагоцитарной активности клеток. В дооперационном периоде у больных РГП обнаружены только положительные корреляционные связи между показателями фагоцитарной активности нейтрофилов и интенсивностью синтеза первичных и вторичных АФК. В том числе обнаружена инверсия знака корреляционной связи между ФЧ активно фагоцитирующих нейтрофилов и максимумом интенсивности индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции: при РГП — положительная взаимосвязь, у лиц контрольной группы — отрицательная. Единственной отрицательной корреляционной связью при РГП является взаимосвязь между временем выхода на максимум спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции и ФЧ активно фагоцитирующих нейтрофилов. Данная взаимосвязь указывает на сокращение скорости развития синтеза первичных АФК при высокой фагоцитарной активности клеток. Можно заключить, что у больных РГП в дооперационном периоде наблюдается высокий уровень координации между респираторным взрывом и фагоцитарной активностью нейтрофилов. Оперативное вмешательство и последующее лечение приводят к полной дискоординации между респираторным взрывом и фагоцитозом, что проявляется в отсутствии корреляционных связей между ними.

Таким образом, у больных РГП уже в дооперационном периоде значительно повышена фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов крови. Максимум фагоцитарной активности наблюдается на 7 сутки послеоперационного периода и к 24 суткам количество фагоцитирующих клеток снижается до контрольного уровня, тогда как фагоцитарная активность клеток остается на дооперационном уровне. В дооперационном периоде у больных

РГП количество активно фагоцитирующих нейтрофилов крови в 3,3 раза превышает число слабо фагоцитирующих клеток. К концу периода наблюдения количество активно и слабо фагоцитирующих нейтрофилов нормализуется. Но, если фагоцитарное число активно фагоцитирующих нейтрофилов у больных РГП также нормализуется, то фагоцитарная активность фракции слабо фагоцитирующих клеток остается значительно повышенной относительно контрольного уровня. При исследовании состояния респираторного взрыва в нейтрофилах больных РГП установлено, что уровень синтеза первичных АФК возрастает только с 7 суток послеоперационного периода и индуцированная активность НАДФН-оксидазы остается повышенной к концу периода наблюдения. В то же время, синтез вторичных АФК в нейтрофилах крови больных РГП повышен уже в дооперационном периоде и остается высоким до конца обследования. С помощью корреляционного анализа установлено, что если у здоровых людей выявляются конкурентные взаимосвязи между уровнем синтеза первичных АФК и активностью

фагоцитоза, то все обнаруженные корреляционные связи у больных РГП характеризуют высокий уровень скоординированности между респираторным взрывом и фагоцитарной активностью нейтрофилов. Причем, данные взаимосвязи выявляются только в дооперационном периоде, в послеоперационном периоде — отсутствуют. Можно предположить, что оперативное вмешательство и последующее лечение приводит к полной дискоординации в нейтрофилах крови механизмов фагоцитоза и респираторного взрыва. Выявленные особенности фагоцитарной активности нейтрофилов крови и интенсивности респираторного взрыва в данном типе клеток у больных РГП может быть использовано при разработке иммунотерапевтических методов, направленных на оптимизацию функциональной активности фагоцитирующих клеток при острых инфекционно-воспалительных заболеваниях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности».

Список литературы/References

1. Борисов А.Г., Савченко А.А., Смирнова С.В. К вопросу о классификации нарушений функционального состояния иммунной системы // Сибирский медицинский журнал. 2008. Т. 23, № 3 (вып. 1). С. 13–18. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Smirnova S.V. On the classification of the functional state of the immune system disorders. *Sibirskii meditsinskii zhurnal = Siberian Medical Journal*, vol. 23, no. 3 (iss. 1), pp. 13–18. (In Russ.)]
2. Мазуров Д.В., Пинегин Б.В. Применение проточной цитометрии для оценки поглотительной и бактерицидной функций гранулоцитов и моноцитов периферической крови // Аллергия, астма и клиническая иммунология. 1999. № 9. С. 154–156. [Mazurov D.V., Pinegin B.V. Application of flow cytometry for evaluating the absorbency and the antibacterial functions of granulocytes and monocytes of peripheral blood. *Allergiya, astma i klinicheskaya immunologiya = Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 1999, no. 9, pp. 154–156. (In Russ.)]
3. Савченко А.А., Борисов А.Г., Здзитовецкий Д.Э., Кудрявцев И.В. Состояние клеточного и гуморального иммунитета в зависимости от исхода распространенного гнойного перитонита // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 1. С. 63–70. [Savchenko A.A., Borisov A.G., Zdzitoveckij D.E., Kudryavtsev I.V. The cellular and humoral immunity state depending on the outcome of a widespread purulent peritonitis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 63–70. doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-63-70 (In Russ.)]
4. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г. Иммунометаболические нарушения при распространенном гнойном перитоните. Новосибирск: Наука, 2013. 142 с. [Savchenko A.A., Zdzitoveckij D.E., Borisov A.G. Immunometabolicheskie narusheniya pri rasprostranennom gnoynom peritonite [The immune and metabolic disorders by the widespread purulent peritonitis]. *Novosibirsk: Nauka*, 2013. 142 p.]
5. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г., Лузан Н.А. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов и уровни концентрации цитокинов у больных распространенным гнойным перитонитом // Цитокины и воспаление. 2013. Т. 12, № 1–2. С. 115–119. [Savchenko A.A., Zdzitoveckij D.E., Borisov A.G., Luzan N.A. The chemiluminescent activity of neutrophils and concentration levels of cytokines in patients with widespread purulent peritonitis. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2013, vol. 12, no. 1–2, pp. 115–119. (In Russ.)]
6. Шкапова Е.А., Куртасова Л.М., Савченко А.А. Показатели люцигенин- и люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови у больных раком почки // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т. 149. № 2. С. 201–203. [Shkapova E.A., Kurtasova L.M., Savchenko A.A. The indicators of the lucigenin- and luminol-dependent chemiluminescence of blood neutrophils by the patients with kidney cancer. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 149, no. 2, pp. 201–203. (In Russ.)]
7. Allen R.C. Neutrophil leukocyte: combustive microbicidal action and chemiluminescence. *J. Immunol. Res.*, vol. 2015: 794072, 11 p. doi: 10.1155/2015/794072
8. Arnardottir H.H., Freysdottir J., Hardardottir I. Dietary fish oil increases the proportion of a specific neutrophil subpopulation in blood and total neutrophils in peritoneum of mice following endotoxin-induced inflammation. *J. Nutr. Biochem.*, 2013, vol. 24, no. 1, pp. 248–255. doi: 10.1016/j.jnutbio.2012.05.012
9. Bilen Y., Cankaya E., Bilen N., Keles M., Erdem F., Uyanik A., Hamidullah Uyanik M. Peritonitis incidence was correlated with duration of peritoneal dialysis rather than leptin or neutrophil to lymphocyte (n/l) ratio in peritoneal dialysis patients. *Eurasian J. Med.*, 2014, vol. 46, no. 3, pp. 145–150. doi: 10.5152/eajm.2014.45
10. Dupont A., Dury S., Gafà V., Lebargy F., Deslée G., Guenounou M., Antonicelli F., Le Naour R. Impairment of neutrophil reactivity to elastin peptides in COPD. *Thorax*, 2013, vol. 68, no. 5, pp. 421–428. doi: 10.1136/thoraxjnl-2012-201833

11. Grandel U., Heygster D., Sibelius U., Fink L., Sigel S., Seeger W., Grimminger F., Hattar K. Amplification of lipopolysaccharide-induced cytokine synthesis in non-small cell lung cancer/neutrophil cocultures. *Mol. Cancer Res.*, 2009, vol. 7, no. 10, pp. 1729–1735. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0048
12. Guedes-Martins L., Silva E., Gaio A.R., Saraiva J., Soares A.I., Afonso J., Macedo F., Almeida H. Fetal-maternal interface impedance parallels local NADPH oxidase related superoxide production. *Redox Biol.*, 2015, vol. 5, pp. 114–123. doi: 10.1016/j.redox.2015.04.007
13. Matsushima H., Geng S., Lu R., Okamoto T., Yao Y., Mayuzumi N., Kotol P.F., Chojnacki B.J., Miyazaki T., Gallo R.L., Takashima A. Neutrophil differentiation into a unique hybrid population exhibiting dual phenotype and functionality of neutrophils and dendritic cells. *Blood*, 2013, vol. 121, no. 10, pp. 1677–1689. doi: 10.1182/blood-2012-07-445189
14. Mikami S., Aiboshi J., Kobayashi T., Kojima M., Morishita K., Otomo Y. Discrete roles of intracellular phospholipases A2 in human neutrophil cytotoxicity. *J. Trauma Acute Care Surg.*, 2015, vol. 79, no. 2, pp. 238–246. doi: 10.1097/TA.0000000000000730
15. Nayak N.M., Madhumitha S., Annigeri R.A., Venkataraman R., Balasubramaian S., Seshadri R., Vadamalai V., Rao B.S., Kowdle P.C., Ramakrishnan N., Mani M.K. Clinical utility of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin measured at admission to predict outcomes in heterogeneous population of critically ill patients. *Indian J. Nephrol.*, 2016, vol. 26, no. 2, pp. 119–124. doi: 10.4103/0971-4065.157800
16. Nemzek J.A., Fry C., Moore B.B. Adoptive transfer of fibrocytes enhances splenic T-cell numbers and survival in septic peritonitis. *Shock*, 2013, vol. 40, no. 2, pp. 106–114. doi: 10.1097/SHK.0b013e31829c3c68
17. Sagiv J.Y., Michaeli J., Assi S., Mishalian I., Kisos H., Levy L., Danti P., Lumbroso D., Polyansky L., Sionov R.V., Ariel A., Hovav A.H., Henke E., Fridlender Z.G., Granot Z. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer. *Cell Rep.*, 2015, vol. 10, no. 4, pp. 562–573. doi: 10.1016/j.celrep.2014.12.039
18. Saroni Arwa P., Zeraik M.L., Ximenes V.F., Da Fonseca L.M., Bolzani Vda S., Siqueira Silva D.H. Redox-active biflavonoids from *Garcinia brasiliensis* as inhibitors of neutrophil oxidative burst and human erythrocyte membrane damage. *J. Ethnopharmacol.*, 2015, vol. 174, pp. 410–418. doi: 10.1016/j.jep.2015.08.041
19. Watzlawick R., Kenngott E.E., Liu F.D., Schwab J.M., Hamann A. Anti-inflammatory effects of IL-27 in zymosan-induced peritonitis: inhibition of neutrophil recruitment partially explained by impaired mobilization from bone marrow and reduced chemokine levels. *PLoS One*, 2015, vol. 11, no. 10(9), e0137651. doi: 10.1371/journal.pone.0137651
20. Yang T., Peleli M., Zollbrecht C., Giulietti A., Terrando N., Lundberg J.O., Weitzberg E., Carlström M. Inorganic nitrite attenuates NADPH oxidase-derived superoxide generation in activated macrophages via a nitric oxide-dependent mechanism. *Free Radic. Biol. Med.*, 2015, vol. 83, pp. 159–166. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.02.016
21. Zonneveld R., Molema G., Plotz F.B. Analyzing neutrophil morphology, mechanics, and motility in sepsis: options and challenges for novel bedside technologies. *Crit. Care Med.*, 2016, vol. 44, no. 1, pp. 218–228. doi: 10.1097/CCM.0000000000001266

Авторы:

Савченко А.А., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Гвоздев И.И., младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Борисов А.Г., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Черданцев Д.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой и клиникой хирургических болезней им. проф. А.М. Дыхно с курсом эндоскопии и эндохирургии ПО ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия;
Первова О.В., д.м.н., профессор кафедры и клиники хирургических болезней им. проф. А.М. Дыхно с курсом эндоскопии и эндохирургии ПО ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия;
Кудрявцев И.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории общей иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург; старший научный сотрудник кафедры фундаментальной медицины ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Россия;
Мошев А.В., младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия.

Authors:

Savchenko A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular-Cell Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Gvozdev I.I., Junior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Borisov A.G., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular-Cell Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Cherdancev D.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department and Clinic of Surgical Diseases named after prof. A.M. Dykhno with a Course of Endoscopy and Endosurgery, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Pervova O.V., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department and Clinic of Surgical Diseases named after prof. A.M. Dykhno with a Course of Endoscopy and Endosurgery, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg; Senior Researcher, Department of Fundamental Medicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok; Associate Professor, Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Moshev A.V., Junior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation.

МЕТААНАЛИЗ ИССЛЕДОВАНИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ГРИППОМ А(Н1N1)рdm09

М.В. Шипилов¹, А.В. Тутельян²

¹ ОГБУЗ Клиническая больница № 1, г. Смоленск, Россия

² ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Резюме. Интерлейкин-6 (IL-6) является мощным провоспалительным цитокином, уровень которого повышается в периферической крови при многих инфекционных заболеваниях, в том числе и при гриппе А(Н1N1)рdm09, в ряде случаев (при избыточной его выработке иммунокомпетентными клетками) приводя не только к усилению иммунитета, но и к развитию «цитокинового шторма», характеризующегося полиорганной недостаточностью и нередким последующим летальным исходом. Для уменьшения вероятности ошибок, увеличения статистической мощности и повышения достоверности результатов согласно данным различных исследователей, а также по результатам собственных исследований был проведен метаанализ (количественный систематический обзор) исследования IL-6 в периферической крови больных гриппом А(Н1N1)рdm09. Цель исследования: определить с высоким уровнем достоверности, является ли IL-6 маркером тяжести течения и прогноза при этом заболевании. Был проведен поиск научных работ по данной тематике в различных электронных базах данных (Medline, EMBASE, Кокрановский регистр контролируемых исследований и др.), в обзорах, диссертациях, журналах, трудах конференций и др. В процессе проведения метаанализа было отобрано 5 научных работ, отвечающих критериям включения/невключения в исследование (характеристика научных работ, критерии диагностики, возраст пациентов, сопоставимость групп пациентов, наличие собственного контроля, методика исследования, статистический критерий и общее число независимых исследований). Выбранные исследования показали достаточную однородность (гомогенность) групп сравнения. Результаты проведения метаанализа представлены в таблицах, на графиках и на блобограмме. Метаанализ 5 научных работ показал, что при среднетяжелом и тяжелом течениях гриппа А(Н1N1)рdm09 отмечается достоверное повышение концентрации IL-6 в периферической крови больных в сравнении с контрольной группой лиц (со здоровыми). Тяжелое течение гриппа А(Н1N1)рdm09 с высокой вероятностью летального исхода характеризуется еще большим повышением уровня IL-6 (в сравнении с его среднетяжелым течением) — 11 пг/мл и более. Таким образом, по результатам метаанализа IL-6 с высокой долей вероятности определен как биомаркер тяжести течения и прогноза развития заболевания. В то же время, в результате проведения метаанализа отмечены довольно значительные изменения абсолютных значений концентрации IL-6 в периферической крови, что может быть объяснено использованием различных тестовых наборов и лабораторного оборудования. Необходимо накопить опыт исследования уровня IL-6 на одних и тех же тест-системах и лабораторном оборудовании.

Ключевые слова: блобограмма, грипп А(Н1N1)рdm09, интерлейкин-6, метаанализ, тяжесть течения, цитокины.

Адрес для переписки:

Шипилов Михаил Васильевич
214006, Россия, г. Смоленск, ул. Фрунзе, 40,
Клиническая больница № 1.
Тел.: 8 (4812) 27-09-57 (служебн.).
E-mail: mshipilov@rambler.ru

Contacts:

Mikhail V. Shipilov
214006, Russian Federation, Smolensk, Frunze str., 40,
Clinical Hospital No. 1.
Phone: +7 (4812) 27-09-57 (office).
E-mail: mshipilov@rambler.ru

Библиографическое описание:

Шипилов М.В., Тутельян А.В. Метаанализ исследования интерлейкина-6 в периферической крови больных гриппом А(Н1N1)рdm09 // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 61–68. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-61-68

Citation:

Shipilov M.V., Tutelian A.V. Meta-analysis of the research of IL-6 in peripheral blood of patients with influenza A(H1N1)pdm09 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 61–68. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-61-68

META-ANALYSIS OF THE RESEARCH OF IL-6 IN PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH INFLUENZA A(H1N1)pdm09

Shipilov M.V.^a, Tutelian A.V.^b

^a *Clinical Hospital No. 1, Smolensk, Russian Federation*

^b *Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation*

Abstract. Interleukin-6 (IL-6) is a potent proinflammatory cytokine, which level is increased in the peripheral blood in many infectious diseases, including the flu A(H1N1)pdm09, in some cases (when the excess of his development of immune cells), resulting not only to strengthen the immune system, but also to the development of a “cytokine storm” is characterized by multi-organ failure and often followed by death. To reduce errors, increase the statistical power and increase the reliability of the results according to different researchers, as well as on the results of their own research was conducted a meta-analysis (a quantitative systematic review) of IL-6 studies in peripheral blood of patients with influenza A(H1N1)pdm09. Question: to determine with a high level of confidence, whether IL-6, a marker of the severity and prognosis of the disease. Searches were carried out research work on this subject in a variety of electronic databases (Medline, EMBASE, the Cochrane Controlled Trials Register, and others), reviews, theses, magazines, conference proceedings, and others. In the process of carrying out a meta-analysis of 5 scientific papers were selected that meet the criteria for inclusion/non-inclusion in the study (characteristic of scientific papers, diagnostic criteria, age of patients, comparable groups of patients, the presence of self-control, research methodology, statistical criterion and the total number of independent studies). Selected studies have shown sufficient uniformity (homogeneity) comparison groups. The results of the meta-analysis are presented in tables, charts and blobogramme, meta-analysis of 5 scientific papers showed that in moderate and severe influenza A(H1N1)pdm09 noted a significant increase in the concentration of IL-6 in peripheral blood of patients compared with the control a group of individuals (healthy). Severe influenza A(H1N1)pdm09 with a high probability of death is characterized by an even greater increase in IL-6 levels (in comparison with the moderate flow) — 11 pg/ml or more. Thus, the results of a meta-analysis of IL-6 with a high degree of probability is defined as a biomarker of disease severity and prognosis of development. At the same time, a result of meta-analysis of observed quite significant changes of the absolute values of the concentration of IL-6 in peripheral blood, which can be explained by using various test patterns and laboratory equipment, so that necessary to accumulate research experience level IL-6 on one and the same test systems and laboratory equipment.

Key words: *blobogramm, influenza A(H1N1)pdm09, interleukin-6, meta-analysis, severity, cytokines.*

Введение

Интерлейкин-6 (IL-6) относится к мощным цитокинам воспаления, вырабатывается различными клетками человеческого организма (прежде всего — моноцитами, макрофагами, нейтрофилами). Его функциями являются активация значительного числа иммунокомпетентных клеток, прежде всего относящихся к гуморальному звену иммунитета, индукция синтеза острофазовых белков в печени (фибриногена, гаптоглобина, С-реактивного белка) и др. [2, 3].

В то же время избыточная выработка провоспалительных цитокинов (таких как IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IFN γ , TNF α и др.), может характеризовать не только усиление иммунитета, но и запуск процессов деструкции и некроза тканей. Такое состояние, именуемое как «цитокиновый шторм», нередко приводит к развитию полиорганной недостаточности и последующей гибели человека [11].

Среди большого числа провоспалительных цитокинов в качестве ведущего участника цитокинового шторма при гриппе ряд авторов указывает на IL-6, повышенный уровень кото-

рого отмечался именно при тяжелом течении гриппа как в экспериментальных условиях [12], так и в периферической крови больных [4, 5, 7, 8, 10, 11]. Так из 6 цитокинов воспаления (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17 и IFN γ) в периферической крови больных тяжелой формой гриппа A(H1N1)pdm09 наиболее резким (в 20 раз выше нормы) было повышение уровня IL-6 [5]. Это позволило предположить, что именно IL-6 является важнейшим маркером тяжести течения и исхода данного заболевания.

Метаанализ (количественный систематический обзор) — количественное научное исследование, при котором объединяются исследования по одной и той же проблеме, проведенные в схожих условиях и описанные в литературе [1]. Необходимость проведения метаанализа связана с тем, что уменьшается вероятность ошибок, увеличивается объем выборки данных, что приводит к повышению статистической мощности и, следовательно, достоверности результатов [6, 9]. В доступной литературе отсутствует метаанализ исследования концентрации IL-6 в периферической крови больных гриппом A(H1N1)pdm09, что и определило задачу исследования.

Задачей метаанализа было изучение по результатам данных литературы и собственных исследований информативности определения концентрации IL-6 в периферической крови больных гриппом А(Н1N1)pdm09.

Также необходимо было определить, является ли IL-6 маркером тяжести течения и прогноза данного заболевания.

Материалы и методы

Был проведен поиск научных работ по обозначенной выше тематике в различных электронных базах данных (Medline, EMBASE, Кокрановский регистр контролируемых исследований и др.), в обзорах, диссертациях, журналах, трудах конференций и др. Для качественного отбора публикаций по данной тематике были определены критерии включения/невключения отдельных независимых оригинальных исследований в метаанализ.

Критерии включения в метаанализ:

- характеристика научных работ: научные данные, опубликованные в рецензируемых научных журналах; отсутствие повторов (дублирования) данных одних и тех же научных работ с одним и тем же коллективом авторов;
- диагностика: клинический диагноз гриппа А(Н1N1)pdm09, подтвержденный методом полимеразной цепной реакции;
- возраст пациентов: 15–70 лет;
- сопоставимость групп пациентов, то есть наличие сходных изучаемых характеристик (сопоставление с одним и тем же периодом течения заболевания и сопоставление с одной и той же степенью тяжести заболевания): острая фаза заболевания (1–5 день болезни); все исследованные группы пациентов должны быть разделены по степени тяжести заболевания;
- исследования, в составе которых были группы здоровых (доноров);
- методика исследования: изучение концентрации цитокинов в периферической крови; метод исследования — иммуноферментный анализ (ИФА/ELISA);
- статистический критерий: определение диапазона значений исследуемых цитокинов в периферической крови пациентов с уровнем значимости не выше $p = 0,05$;
- количество независимых исследований рассматриваемого цитокина, удовлетворяющих всем предыдущим критериям: наличие трех и более независимых исследований.

Критерии неключения в метаанализ:

- характеристика научных работ: работы, не прошедшие научного рецензирования в установленной форме; наличие повторов (дублирования) данных одних и тех же научных работ с одним и тем же коллективом авторов;

- диагностика: клинический диагноз гриппа, подтвержденный только клинически;
- возраст пациентов: лица до 15 лет (детского возраста) и пациенты старше 70 лет;
- несопоставимость групп пациентов: пациенты с различными периодами и с различной степенью тяжести заболевания; пациенты в острой фазе, но с 6 дня болезни и более; отсутствие разделения групп пациентов по степени тяжести заболевания;
- отсутствие контрольной группы лиц (здоровых доноров) в проведенных исследованиях;
- методика исследования: изучение концентрации цитокинов не в периферической крови. Метод исследования цитокинов — не ИФА, а другие методики;
- статистический критерий: определение диапазона значений исследуемых цитокинов в периферической крови пациентов с уровнем значимости выше $p = 0,05$;
- количество независимых исследований рассматриваемого цитокина, удовлетворяющих всем предыдущим критериям: менее трех независимых исследований.

Неоднородность между различными исследованиями концентраций IL-6 в периферической крови была изображена графически, с использованием статистических методов определялись интегральные (общие) доверительные интервалы для концентраций соответствующих цитокинов с уровнем значимости $p = 0,05$.

Результаты

Было отобрано пять исследований, отвечающих критерию включения/невключения научных работ [4, 5, 7, 8, 10]. В таблицу 1 сведено число пациентов в данных исследованиях, на которой видно, что выбранные исследования по числу пациентов достаточно однородны: среднее число пациентов, округленное до целого — $M = 33$; среднеквадратическое отклонение — $\sigma = 7,71$; коэффициент вариации — $K = M/\sigma = 0,23 (\leq 1)$.

В таблицу 2 сведены уровни IL-6 в периферической крови больных гриппом А(Н1N1)pdm09 и здоровых доноров (уровень контроля) по данным различных независимых исследований.

Результаты сопоставления концентрации IL-6 в периферической крови больных гриппом А(Н1N1)pdm09 в остром периоде заболевания со значением IL-6 в периферической крови здоровых доноров (контроля) представлены на рисунке 1. Указанные данные имеются в работах [4, 5, 7]. По результатам всех трех независимых исследований уровень IL-6 в периферической крови больных гриппом А(Н1N1)pdm09 был достоверно выше, чем у контрольной группы лиц.

Результаты определения уровня IL-6 по данным пяти независимых исследований у больных со среднетяжелым течением заболевания представлены на рисунке 2. Обобщение результатов исследований показывает, что при нетяжелом гриппе A(H1N1)pdm09 нижний и верхний квантили уровня IL-6 при $p = 0,05$ составляют {3,2; 32}.

Результаты сравнения концентрации IL-6 в периферической крови по данным пяти независимых исследований у больных с тяжелым

течением гриппа A(H1N1)pdm09 показаны на рисунке 3. Обобщение результатов исследований показывает, что при тяжелом течении гриппа A(H1N1)pdm09 нижний и верхний квантили при $p = 0,05$ уровня IL-6 равняются {11; 800}.

Итоги сопоставления уровней IL-6 при среднетяжелом и тяжелом течении заболевания отображает рисунок 4.

Результаты проведения метаанализа научных работ по определению IL-6 представлены на блобограмме (рис. 5).

Таблица 1. Число пациентов гриппом A/H1N1 в различных исследованиях уровня IL-6 в периферической крови

Table 1. Number of patients with influenza A/H1N1 various studies IL-6 levels in the peripheral blood

| Исследование Research | Условия определения (как оно указано в исследовании) Certain conditions (as it appears in the research) | Число исследованных лиц Number investigated persons | Число здоровых доноров Number of healthy donors | Число больных гриппом A/H1N1 The number of patients with influenza A/H1N1 | Доля от общего числа больных гриппом A/H1N1, % The proportion of the total number of patients with influenza A/H1N1, % |
|---|--|--|--|--|---|
| Bermejo-Martin J.F. et al., 2009 [5] | В периферической крови здоровых доноров/Control | 15 | 15 | – | – |
| | A/H1N1, нетяжелое состояние A/H1N1, non critical | 15 | – | 15 | 9,1 |
| | A/H1N1, тяжелое состояние A/H1N1, critical | 20 | – | 20 | 12,1 |
| Hagau N. et al., 2010 [7] | В периферической крови здоровых доноров/Control | 15 | 15 | – | – |
| | A/H1N1, состояние средней тяжести A/H1N1, mild disease | 11 | – | 11 | 6,7 |
| | A/H1N1, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) A/H1N1, acute respiratory distress syndrome (ARDS) | 21 | – | 21 | 12,7 |
| То К.К. et al., 2010 [10] | A/H1N1, выжившие (без развития ОРДС) A/H1N1, survived-without ARDS-death | 10 | – | 10 | 6,1 |
| | A/H1N1, развитие ОРДС с последующим летальным исходом A/H1N1, ARDS-death | 18 | – | 18 | 10,9 |
| Шипилов М.В. с соавт., 2011 [4] Shipilov M.V. et al., 2011 [4] | В периферической крови здоровых доноров/Control | 17 | 17 | – | – |
| | A/H1N1, острый период, состояние средней тяжести A/H1N1, acute phase, moderate form | 15 | – | 15 | 9,0 |
| | A/H1N1, острый период, тяжелое состояние A/H1N1, the acute phase, severe form | 10 | – | 10 | 6,1 |
| Raquette S.G. et al., 2012 [8] | A/H1N1, нетяжелое состояние A/H1N1, non critical | 10 | – | 10 | 6,1 |
| | A/H1N1, тяжелое состояние A/H1N1, critical | 35 | – | 35 | 21,2 |
| Итого пациентов Total of patients | | 212 | 47 | 165 | 100 |

Таблица 2. Уровни IL-6 в периферической крови больных гриппом A(H1N1)pdm09 по данным различных исследований

Table 2. Levels of IL-6 in peripheral blood of patients with influenza A(H1N1)pdm09 according to various researches

| Исследование Research | Условия определения (как оно указано в исследовании) Certain conditions (as it appears in the research) | (Диапазон значений), {нижний и верхний квантили при $p = 0,05$ }, <медиана>, пг/мл (Range) {upper and lower quantile at $p = 0,05$ }, <Median>, pg/ml |
|---|--|--|
| Bermejo-Martin J.F. et al., 2009 [5] | В периферической крови здоровых доноров/Control | (4,2; 4,2); {4,2; 4,2}; <4,2> |
| | A/H1N1, нетяжелое состояние A/H1N1, non critical | (4; 30)#; {10; 25}#; <16,0> |
| | A/H1N1, тяжелое состояние A/H1N1, critical | (20; 260)**; {40; 220}**; <90,2> |
| Hagau N. et al., 2010 [7] | В периферической крови здоровых доноров/Control | (0; 6,1); {6; 6}; <6,0> |
| | A/H1N1, состояние средней тяжести A/H1N1, mild disease | (8; 18)#; {8,5; 10}#; <8,3> |
| | A/H1N1, ОРДС A/H1N1, ARDS | (8,5; 100)**; {11; 65}**; <19,4> |
| То К.К. et al., 2010 [10] | A/H1N1, выжившие (без развития ОРДС) A/H1N1, survived-without ARDS-death | (15; 50); {15; 32}; <15,5> |
| | A/H1N1, развитие ОРДС с последующим летальным исходом A/H1N1, ARDS-death | (25; 800)**; {50; 630}**; <251,2> |
| Шипилов М.В. с соавт., 2011 [4] Shipilov M.V. et al., 2011 [4] | В периферической крови здоровых доноров/Control | (0; 6,5); {0; 3,5}; <0,3> |
| | A/H1N1, острый период, состояние средней тяжести A/H1N1, the acute phase, moderate form | (0; 71)#; {3,2; 9,5}#; <5,1> |
| | A/H1N1, острый период, тяжелое состояние A/H1N1, the acute phase, severe form | (16,2; 300)**; {23; 226,1}**; <100,5> |
| Paquette S.G. et al., 2012 [8] | A/H1N1, нетяжелое состояние A/H1N1, non critical | (5; 30); {10; 25}; <15,2> |
| | A/H1N1, тяжелое состояние A/H1N1, critical | (0; 370)**; {25; 250}**; <85,4> |

Примечания. # — достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$); ** — достоверные отличия между выборкой пациентов с тяжелым течением гриппа A(H1N1)pdm09 в остром периоде заболевания и другими выборками ($p < 0,05$).

Notes. # — a significant difference from control ($p < 0,05$); ** — significant differences between the sample of patients with severe course of influenza A(H1N1)pdm09 in the acute period of the disease and other samples ($p < 0,05$).

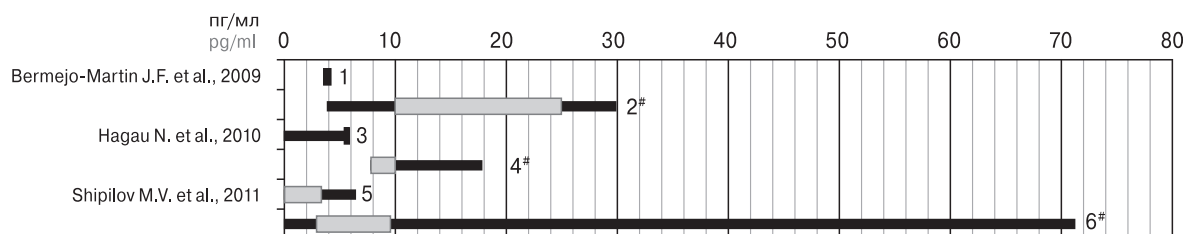
**Рисунок 1. Уровень IL-6 у здоровых доноров и больных гриппом A(H1N1)pdm09**

Figure 1. IL-6 level in healthy donors and patients with influenza A(H1N1)pdm09

Примечание: 1, 3, 5 — здоровые доноры; 2, 4, 6 — больные гриппом A(H1N1)pdm09 с нетяжелым течением; #достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$).

Note: 1, 3, 5 — healthy donors; 2, 4, 6 — patients with moderate form of influenza A(H1N1)pdm09;

#a significant difference from control ($p < 0,05$).

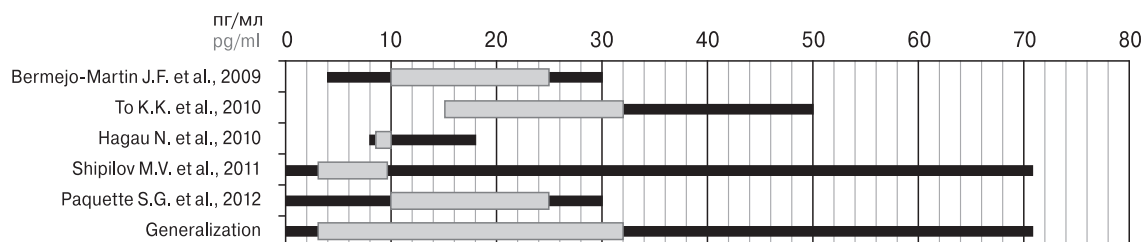
**Рисунок 2. Уровень IL-6 больных среднетяжелым течением гриппа A(H1N1)pdm09 в остром периоде**

Figure 2. The level of IL-6 patients with average severity influenza A(H1N1)pdm09 in the acute period

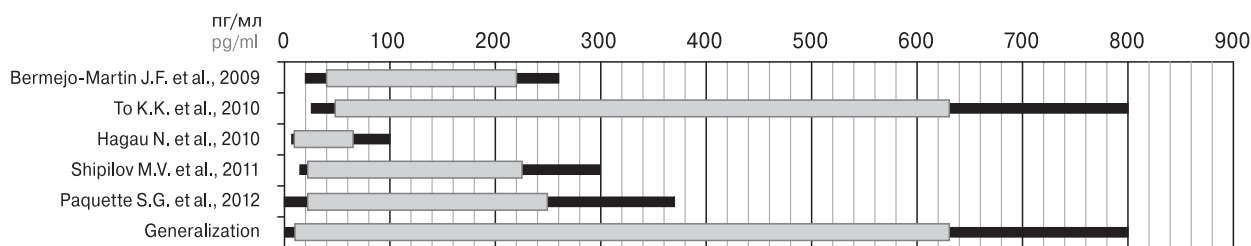


Рисунок 3. Уровень IL-6 больных тяжелым течением гриппа A(H1N1)pdm09 в остром периоде заболевания

Figure 3. The level of IL-6 of patients with severe course of influenza A(H1N1)pdm09 in the acute stage of the disease

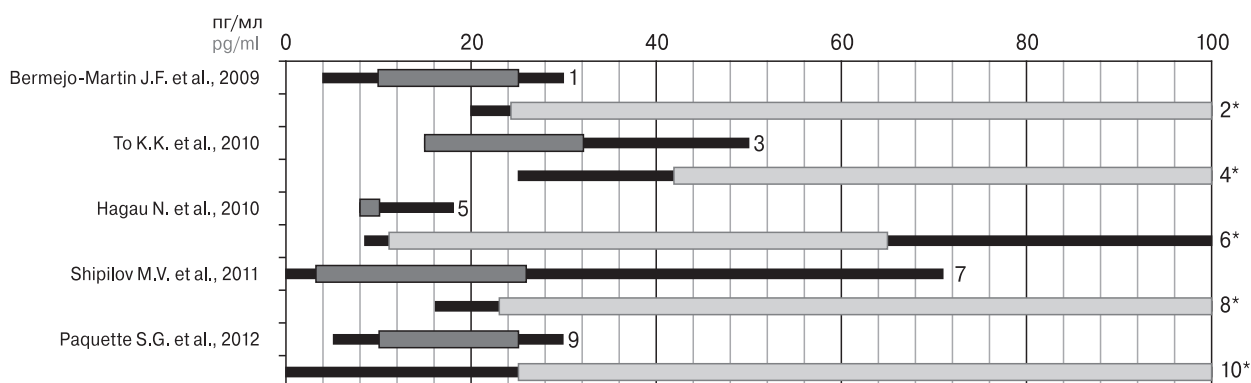


Рисунок 4. Уровень IL-6 у больных гриппом A(H1N1)pdm09 со среднетяжелым и тяжелым течением в остром периоде заболевания

Figure 4. The level of IL-6 in patients with influenza A(H1N1)pdm09 with average and severe in the acute stage of the disease

Примечание: 1, 3, 5, 7, 9 — нетяжелое течение; 2, 4, 6, 8, 10 — тяжелое течение; *достоверные различия между группой больных с тяжелым течением и другими вариантами течения гриппа A(H1N1)pdm09, в остром периоде заболевания ($p < 0,05$).

Note: 1, 3, 5, 7, 9 — a moderate form; 2, 4, 6, 8, 10 — severe form; *significant differences between the group of patients with severe form and other currents influenza A(H1N1)pdm09, in the acute period of the disease ($p < 0,05$).

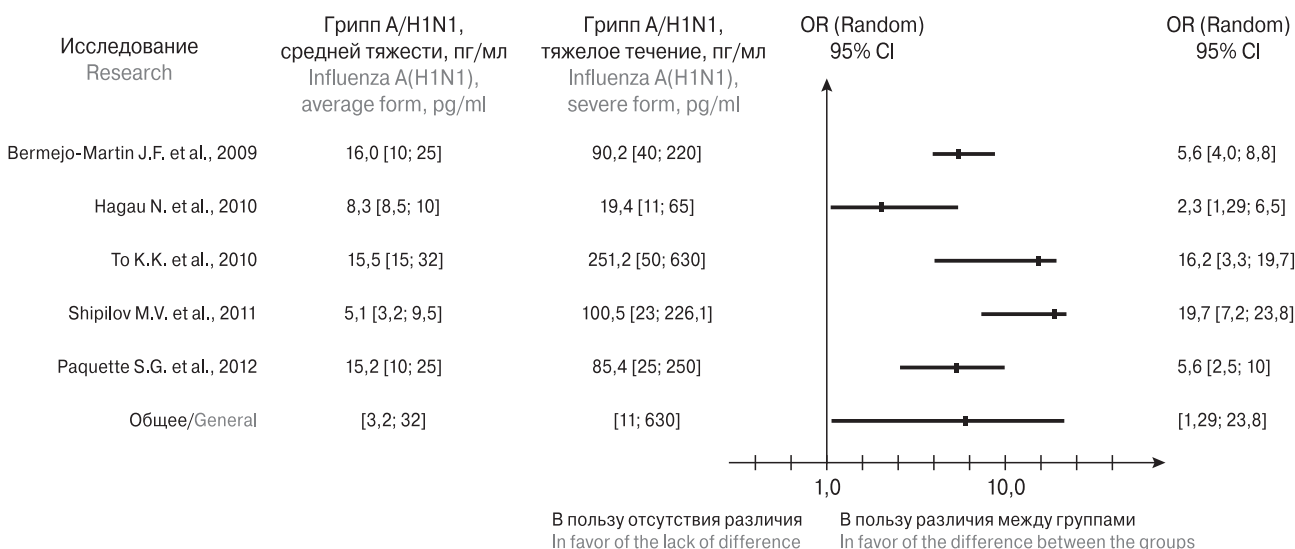


Рисунок 5. Блобограмма по результатам метаанализа концентрации IL-6 в периферической крови больных гриппом A(H1N1)pdm09

Figure 5. Blobogramma on the results of a meta-analysis of the concentration of IL-6 in peripheral blood of patients with influenza A(H1N1)pdm09

По результатам всех пяти независимых исследований можно сделать вывод о том, что концентрация IL-6 в периферической крови у больных с тяжелым течением гриппа А(Н1N1) pdm09 была достоверно выше, чем при его среднетяжелом течении ($p < 0,05$).

Обсуждение

Таким образом, по результатам проведенного метаанализа отобранных научных исследований по изучению уровня IL-6 у больных гриппом А(Н1N1) pdm09 (общее число исследованных лиц — 212, число больных гриппом А(Н1N1) pdm09 — 165) было определено следующее.

1. При среднетяжелом и тяжелом течении гриппа А(Н1N1) pdm09 отмечено достоверное повышение концентрации IL-6 в периферической крови по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,05$). При нетяжелом течении гриппа А(Н1N1) pdm09 нижний и верхний квантили уровня IL-6 {3,2; 32} пг/мл, при тяжелой форме гриппа А(Н1N1) pdm09 (с высокой вероятностью заканчивающейся летальным исходом) — {11; 800} пг/мл ($p = 0,05$).

2. При тяжелом течении гриппа А(Н1N1) pdm09, сопровождающимся нередким летальным исходом, отмечается достоверно более вы-

сокая концентрация IL-6 в периферической крови по сравнению со среднетяжелым течением данного заболевания ($p < 0,05$).

3. IL-6 является маркером тяжести течения гриппа А(Н1N1) pdm09 (для больных он достоверно выше, чем для здоровых, при тяжелом течении показатель IL-6 достоверно выше, чем при его среднетяжелом течении); при концентрации IL-6 в периферической крови более 11 пг/мл пациенты гриппом требуют особого внимания, так как их состояние может быть критическим.

4. Несмотря на выполнение во всех исследованиях по изучению концентрации IL-6 в периферической крови условий, приведенных в перечисленных выше пунктах 1–3, полученные абсолютные значения уровня IL-6 претерпевают значительные изменения от одного исследования к другому, что можно объяснить использованием диагностических систем и лабораторного оборудования различных производителей. Для более точной диагностики и прогнозирования на основе концентрации IL-6 в периферической крови больных гриппом А(Н1N1) pdm09 необходимо накопить достаточный опыт использования конкретного типа диагностических тест-систем и лабораторного оборудования.

Список литературы/References

- Петров В.И. Базисные принципы и методология доказательной медицины // Вестник ВолгГМУ. 2011. Т. 38, № 2. С. 3–8. [Petrov V.I. Basic principles and methodology of evidence-based medicine. *Vestnik VolgGMU = Journal of VolgSMU*, 2011, vol. 38, no 2, pp. 3–8. (In Russ.)]
- Симбирцев А.С. Цитокины — новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. 2002. № 1. С. 9–17. [Simbircev A.S. Cytokines — a new system of regulation of defense reactions. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2002, no. 1, pp. 9–17. (In Russ.)]
- Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Клетки иммунной системы. СПб.: Наука, 2000. 231 с. [Freidlin I.S., Totolian A.A. *Kletki immunnoi sistemy [Cells of the immune system]*. St. Petersburg: Nauka, 2000. 231 p.]
- Шипилов М.В., Иванов В.В. Патогенетическая и прогностическая роль интерлейкина-6 при острых респираторных вирусных инфекциях // Врач-аспирант. 2011. Т. 47, № 4.1. С. 213–218. [Shipilov M.V., Ivanov V.V. Pathogenetic and prognostic role of interleukin-6 in acute respiratory viral infections. *Vrach-aspirant = PhD candidate*, 2011, vol. 47, no 4.1, pp. 213–218. (In Russ.)]
- Bermejo-Martin J.F., Ortiz de Lejarazu R., Pumarola T., Rello J., Almansa R., Ramirez P., Martin-Loeches I., Varillas D., Gallegos M.C., Serón C., Micheloud D., Gomez J.M., Tenorio-Abreu A., Ramos M.J., Molina M.L., Huidobro S., Sanchez E., Gordón M., Fernández V., Del Castillo A., Marcos M.A., Villanueva B., López C.J., Rodríguez-Domínguez M., Galan J.C., Cantón R., Lietor A., Rojo S., Eiros J.M., Hinojosa C., Gonzalez I., Torner N., Banner D., Leon A., Cuesta P., Rowe T., Kelvin D.J. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza. *Crit. Care*, 2009, vol. 13, no. 6: R201. doi: 10.1186/cc8208
- Guyatt G., Rennie D., Meade M., Cook D. Users' guide to the medical literature: a manual for evidence-based clinical practice; 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 2008. 803 p.
- Hagau N., Slavcovic A., Gonganau D.N., Oltean S., Dirzu D.S., Brezozski E.S., Maxim M., Ciuce C., Mlesnite M., Gavrus R.L., Laslo C., Hagau R., Petrescu M., Studnicska D.M. Clinical aspects and cytokine response in severe H1N1 influenza A virus infection. *Crit. Care*, 2010, vol. 14, no. 6: R203. doi: 10.1186/cc9324
- Paquette S.G., Banner D., Zhao Z., Fang Y., Huang S.S.H., León A.J., Ng D.C.K., Almansa R., Martin-Loeches I., Ramirez P., Socias L., Loza A., Blanco J., Sansonetti P., Rello J., Andaluz D., Shum B., Rubino S., Ortiz de Lejarazu R., Tran D., Delogu G., Fadda G., Krajdén S., Rubin B.B., Bermejo-Martin E.F., Kelvin A.A., Kelvin D.J. Interleukin-6 is a potential biomarker for severe pandemic H1N1 influenza A infection. *PLoS One*, 2012, vol. 7, iss. 6: e38214. doi: 10.1371/journal.pone.0038214
- Petitti D.B. Meta-Analysis, decision analysis, and cost effectiveness analysis: methods for quantitative synthesis in medicine; 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2000. 305 p.

10. To K.K.W., Hung I.F.N., Li I.W.S., Lee K.-L., Koo C.-K., Yan W.-W., Liu R., Ho K.-Y., Chu K.-H., Watt C.-L., Luk W.-K., Lai K.-Y., Chow F.-L., Mok T., Buckley T., Chan J.F.W., Wong S.S.Y., Zheng B., Chen H., Lau C.C.Y., Tse H., Cheng V.C.C., Chan K.-H., Yuen K.-Y. Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection. *Clin. Infect. Dis.*, 2010, vol. 50, no. 6, pp. 850–859. doi: 10.1086/650581
11. Us D. Cytokine storm in avian influenza. *Mikrobiyol. Bul.*, 2008, vol. 42, no 2, pp. 365–380.
12. Wang S., Le T.Q., Kurihara N., Chida J., Cisse Y., Yano M., Kido H. Influenza virus-cytokine-protease cycle in the pathogenesis of vascular hyperpermeability in severe influenza. *J. Infect. Dis.*, 2010, vol. 202, no 7, pp. 991–1001. doi: 10.1086/656044

Авторы:

Шипилов М.В., к.м.н., зав. инфекционным отделением № 2
ОГБУЗ Клиническая больница № 1, г. Смоленск, Россия;

Тутельян А.В., член-корреспондент РАН, д.м.н.,
зав. лабораторией инфекций, связанных с оказанием
медицинской помощи ФБУН ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора, Москва, Россия.

Authors:

Shipilov M.V., PhD (Medicine), Head of the Infectious Department
No. 2, Clinical Hospital No. 1, Smolensk, Russian Federation;
Tutelian A.V., RAS corresponding member, PhD, MD (Medicine),
Head of the Laboratory of Health Care Associated Infections, Central
Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance
on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow,
Russian Federation.

Поступила в редакцию 15.01.2017
Принята к печати 03.02.2017

Received 15.01.2017
Accepted 03.02.2017

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ИССЛЕДОВАНИЙ МЕТОДОМ ИФА ПРИ ЛАБОРАТОРНОМ ПОДТВЕРЖДЕНИИ КОРИ И КРАСНУХИ НА ЭТАПЕ ЭЛИМИНАЦИИ ЭТИХ ИНФЕКЦИЙ

Т.А. Мамаева¹, Н.В. Железнова², М.А. Наумова¹, Т.С. Чехляева¹,
Е.В. Воробейчиков³, М. Бен Маму⁴, В.А. Алешкин¹

¹ ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

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

³ «НПО Полифарм», Санкт-Петербург, Россия

⁴ Европейское региональное бюро ВОЗ, Копенгаген, Дания

Резюме. Для оценки результатов серологических исследований по определению антител классов IgM и IgG к вирусам кори и краснухи методом ИФА в рамках программы элиминации этих инфекций в странах СНГ и России впервые на основании распоряжения Правительства Российской Федерации от 4 апреля 2014 г. №523-р были приготовлены внутренние лабораторные контроли (ВЛК): «Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG». Согласно паспортным данным, образцы ВЛК представляют собой лиофилизированную сыворотку крови человека, инактивированную прогреванием (56°C в течение 1 ч), стабилизированную с помощью смеси сахарозы (5%) и консерванта ProClin-3000. Препараты не содержат HBsAg, антител к ВГС, *T. pallidum*, ВИЧ-1/2, антиген р24 ВИЧ-1. Целью данного исследования явилась оценка возможности использования серий ВЛК при определении IgM и IgG к вирусам кори и краснухи методом ИФА в тест-системах, используемых лабораторной сетью по надзору за корью/краснухой в странах СНГ и России. При определении специфической активности ВЛК «Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM в тест-системах разного формата фирм (Вектор Бест, Эколаб, Siemens) получены статистически различимые результаты ($p < 0,05$). Показатели IgM, полученные при анализе контролей «Корь-IgM с.1» и «Корь-IgM с.2» с помощью «ВектоКорь IgM» были выше значений, полученных с использованием наборов IgEnzygnost® Anti-MeaslesVirus/IgM: $1,33 \pm 0,02$ о.е. против $0,18 \pm 0,01$ о.е. при $p < 0,05$ и $2,83 \pm 0,03$ о.е. против $0,7 \pm 0,02$ о.е. при $p < 0,05$ соответственно. В образцах «Рубелла-IgM» значения ОП IgM в наборах «ИФА-краснуха IgM» также превышали показатели, полученных с помощью IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM: $2,92 \pm 0,04$ о.е. против $0,88 \pm 0,03$ о.е. при $p < 0,05$. Определена статистическая достоверность и высокая информационная способность моделей зависимости изменений ОП от степени разведений исходного образца ВЛК при подборе параметров рабочих растворов ВЛК для тестов: «capture» и «indirect» формата: коэффициент детерминации (R^2) составляет 97,34 и 99,29, значения критерия Фишера (F) — 219,62 и 556,55, и уровень

Адрес для переписки:

Мамаева Тамара Алексеевна
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10,
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (495) 452-28-26 (служебн.); 8 903 558-10-70 (моб.).
E-mail: 4522826@bk.ru

Contacts:

Tamara A. Mamaeva
125212, Russian Federation, Moscow, Admiral Makarov str., 10,
G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology
and Microbiology.
Phone: +7 (495) 452-28-26 (office); +7 903 558-10-70 (mobile).
E-mail: 4522826@bk.ru

Библиографическое описание:

Мамаева Т.А., Железнова Н.В., Наумова М.А., Чехляева Т.С.,
Воробейчиков Е.В., Бен Маму М., Алешкин В.А. Совершенствование
контроля качества исследований методом ИФА при лабораторном
подтверждении кори и краснухи на этапе элиминации этих инфекций //
Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 69–78. doi: 10.15789/2220-
7619-2017-1-69-78

Citation:

Mamaeva T.A., Zheleznova N.V., Naumova M.A., Chekhlyeva T.S.,
Vorobeychikov E.V., Ben Mamou M., Aleshkin V.A. Improvement of the quality
control of ELISA testing for the laboratory confirmation of measles and
rubella infections at the stage of the measles/rubella elimination program //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017,
vol. 7, no. 1, pp. 69–78. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-69-78

значимости (p) — 0,000 ($< 0,05$) и 0,000 ($< 0,05$) соответственно. Рекомендуемые авторами оптимальные рабочие разведения IgM-содержащих образцов ВЛК позволяют исключить влияние нецелевых маркеров (IgG) и обеспечивают, с учетом формата используемой тест-системы, получение искомой величины показателя 2–3 «cut-off» специфического маркера. Кроме того, в работе обсуждается вопрос о количественном содержании целевого маркера в ВЛК и целесообразности проведения совместных с производителями исследований по определению качества наборов для определения специфических маркеров к вирусам кори и краснухи.

Ключевые слова: корь, краснуха, внутренний лабораторный контроль, ИФА, тест-система, специфические IgM- и IgG-антитела.

IMPROVEMENT OF THE QUALITY CONTROL OF ELISA TESTING FOR THE LABORATORY CONFIRMATION OF MEASLES AND RUBELLA INFECTIONS AT THE STAGE OF THE MEASLES/RUBELLA ELIMINATION PROGRAM

Mamaeva T.A.^a, Zheleznova N.V.^b, Naumova M.A.^a, Chekhlyayeva T.S.^a, Vorobeychikov E.V.^c, Ben Mamou M.^c, Aleshkin V.A.^a

^a *Gabrichovsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

^b *Pasteur Institute for Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russia*

^c *"Polypharm Ltd", St. Petersburg, Russia*

^d *World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark*

Abstract. To estimate ELISA serological studies results of IgM and IgG specific Measles and Rubella Viruses (MRV) antibodies detection the "in-house" laboratory controls (ILC) including the specific markers of MRV infections were for the first time commercially prepared by the Vector Best PLC (Russia): "Measles-IgM, ser.1", "Measles-IgM, ser.2", "Rubella-IgM", "Measles-IgG" and "Rubella-IgG". This task was realized under the special Executive Order of the Government of Russia N 523-г, 2014, April, 4. According to passport characteristics ILC samples are the lyophilized human sera, inactivated by heating (1 hour at 56°C) and stabilized by the mixture of sucrose (5%) and ProClin-3000 as the conservation agent. Samples are free of HBs Ag, anti-HVC, T.Pallidum, HIV-1/2, HIV-1Ag p24. The aim of the study was to evaluate the possibility of using the ILC for detection of the MRV IgM and IgG antibodies by ELISA with commercial ELISA kits used in Russia and CIS countries. In the process of detecting the specific activity of "Measles-IgM, ser.1", "Measles-IgM, ser.2" and "Rubella-IgM" by ELISA kits of different formats (Vector Best, EcoLab and Siemens Companies) the statistically different results were received ($p < 0.05$). The optical density (OD) values of IgM in the "Measles-IgM, ser.1" and "Measles-IgM, ser.2" ILC, obtained by ELISA "VectoMeasles IgM" (Vector Best) were significantly higher than those obtained by ELISA IgEnzygnost®Anti-MeaslesVirus/IgM. These values consisted for the ser. 1— 1.33 ± 0.02 o.u. vs. 0.18 ± 0.01 o.u. ($p < 0.05$) and for the ser. 2— 2.83 ± 0.03 o.u. vs. 0.7 ± 0.02 o.e. ($p < 0.05$) in the Vector Best and Siemens ELISA kits correspondently. In the "Rubella-IgM" ILC the OD values of the specific IgM by the "ELISA-Rubella IgM" EcoLab were also higher than those obtained by IgEnzygnost®Anti-RubellaVirus/IgM ELISA kit. These values consisted 2.92 ± 0.04 o.u. vs. 0.88 ± 0.03 o.u. ($p < 0.05$) in EcoLab and Siemens ELISA test-systems correspondently. In the studies when the ILC working solution parameters for ELISA of "capture" and "indirect" formats were evaluated the statistic reliability and high information capability of the mathematic models of the OD value changes vs. the degree of dilution of the initial ILC were determined. For the "capture" and "indirect" formats the determination coefficient (R²) consisted 97.34 and 99.29 correspondently, the Fisher criteria (F) — 219.62 and 556.55 correspondently, the significance level (p) — < 0.05 for both formats. The evaluated optimal working dilution degrees of the IgM-containing ILC make possible to exclude the influence of the IgG antibodies as the non-target marker in the ILC. On the other hand, taking into account the format of the used ELISA kit the optimal working dilution degrees give the possibility to obtain the desirable 2–3 "cut-off" values of the specific marker. Moreover, the issue of the target marker quantitative content in ILC is discussed in the study. In order to improve the quality of the commercial MRV IgM and IgG ELISA test-systems the joint studies with those who develop and produce these systems are desirable to be organized.

Key words: measles, rubella, "in-house" laboratory control, ELISA test-system, specific IgM and IgG antibodies.

Введение

В 2003 г. в рамках реализации программы ВОЗ по элиминации кори/краснухи была создана лабораторная сеть, включающая референс-лабораторию ЕРБ ВОЗ (МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Москва), 10 национальных и 13 субнациональных лабораторий стран СНГ и России.

На этапе элиминации этих инфекций лабораторное подтверждение диагноза корь/красну-

ха с привлечением современной системы оценки качества исследований и интерпретации результатов приобретает решающее значение. Необходимость совершенствования лабораторных подходов неоднократно обсуждалась на Совещаниях Глобальной лабораторной сети ВОЗ по кори и краснухе и освещалась в литературе [5, 6, 7, 13, 17, 24].

Методы контроля серологических исследований являются частью системы контроля каче-

ства [12], обеспечивающей адекватность функционирования всей работы диагностических лабораторий. Среди аналитических методов, требующих контроля качества исследований, одно из ведущих мест занимает наиболее сложный иммуноферментный метод (ИФА). Выбор критериев оценки пригодности тест-систем зависит от области их применения и может охватывать более широкий спектр показателей, чем те, которые указаны производителем [3, 4, 20]. При проведении качественных и полуколичественных исследований используются разные контрольные материалы: встроенные в тест-системы и традиционные, приготовленные из биологического материала, родственного исследуемым пробам обследуемых пациентов [12]. Несмотря на то, что встроенные контроли дают некоторую степень уверенности в правильности результатов, они не обеспечивают достаточного контроля всех условий, которые могут повлиять на результат. Для большей уверенности в правильности и надежности результатов исследований рекомендуется использовать традиционные контрольные материалы, которые полнее оценивают правильность всей аналитической системы, приемлемость условий окружающей среды (продолжительность инкубации, калибровка оборудования, работа оператора, качество исследуемого образца), а также чувствительность используемых тест-систем [12].

Актуальность настоящей работы определяется отсутствием отечественных разработок по контролю качества исследований методом ИФА при определении серологических маркеров коревой и краснушной инфекций, а также необходимостью получения достоверных результатов, позволяющих оптимизировать мероприятия по элиминации этих инфекций на территории РФ и в странах СНГ.

В настоящее время реализуется национальный план мероприятий по программе «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» на 2016–2020 гг. На основании распоряжения Правительства Российской Федерации от 4 апреля 2014 г. № 523-р для проведения научно-практических исследований по заданию ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» на производстве ЗАО «Вектор-Бест» были приготовлены внутренние лабораторные контроли (ВЛК), содержащие антитела к вирусам кори/краснухи и отрицательная донорская сыворотка (ОДС). Материалом для приготовления ВЛК служил пул положительных сывороток, полученный от больных, переболевших корью и краснухой, а также привитых против этих инфекций и доноров. Серии ВЛК были охарактеризованы с помощью тест-систем ИФА производителя («Вектор-Бест»). Согласно паспортным данным, образцы ВЛК и ОДС представляют со-

бой лиофилизированную сыворотку крови человека, инактивированную прогреванием (56°C в течение 1 ч), стабилизированную с помощью смеси сахарозы (5%) и консерванта ProClin-3000. Препараты не содержат HBsAg, антител к ВГС, *T. pallidum*, ВИЧ-1,2, антиген р24 ВИЧ-1.

В связи с тем, что контрольные препараты были охарактеризованы только с помощью тест-систем ИФА производителя, целью данного исследования явилась оценка возможности использования образцов ВЛК при определении IgM и IgG к вирусам кори/краснухи методом ИФА, в тест-системах, используемых лабораторной сетью по надзору за корью/краснухой в странах СНГ и в России.

Для этого было необходимо:

- определить специфическую активность образцов ВЛК, содержащих коревые и краснушные антитела IgM и IgG класса: «Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG», в тест-системах производителей «SIEMENS», «ЭКОлаб» и «Вектор-Бест»;
- определить разведения образцов ВЛК («Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG» и «Рубелла-IgG»), обладающие оптимальной активностью специфических антител к вирусам кори/краснухи (2–3 «cut-off») для тест-систем разного формата («capture», «indirect»);
- определить содержание нецелевых маркеров к вирусам кори/краснухи в исходных образцах ВЛК и разведениях, содержащих 2–3 «cut-off» целевого маркера.

Материалы и методы

Материалом исследования были восстановленные в 200 мкл дистиллированной воды и двукратно разведенные с помощью ОДС (1:2–1:128; 1:5–1:40) образцы ВЛК: «Корь-IgM серия 1», «Корь-IgM серия 2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG».

Специфическую активность образцов ВЛК, содержащих антитела к вирусам кори/краснухи, определяли методом ИФА с помощью тест-систем разных производителей и разных форматов:

- «SIEMENS»: IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM, indirect; IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG, indirect; IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM, indirect; IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgG, indirect;
- «ЭКОлаб»: ИФА-краснуха IgM, capture; ИФА-краснуха IgG, indirect;
- «Вектор-Бест»: ВектоКорь IgM, capture; ВектоКорь IgG, indirect; ВектоРубелла-IgG-авидность, indirect;
- «EUROIMMUN»: Avidity: Anti-Measles Viruses ELISA/IgG, indirect.

Оценку специфической активности исходного раствора ВЛК и его разведений осуществляли по величине оптической плотности (ОП) в оптических единицах (о.е.), согласно нормативно-технической документации (инструкции) на используемые тест-системы. Среднюю величину ОП IgM и IgG антител в исходном растворе ВЛК рассчитывали при проведении 24 измерений каждого образца; среднюю величину ОП специфических антител в разведениях ВЛК определяли при исследовании 10 образцов каждого разведения. Для расчета показателя специфической активности антител к вирусам кори/краснухи в исходных образцах и разведениях ВЛК было использовано число «cut-off».

$$\text{Число «cut-off»} = \frac{\text{ОП образца}}{\text{ОПкрит., ОПпор., «cut-off»}},$$

где ОП образца — ОП IgM- или IgG-антител к вирусам кори/краснухи в исходном образце ВЛК или его разведениях; ОПкрит., ОПпор., «cut-off» — пороговые величины в тест-системах разных производителей; ОПкрит. и ОПпор. — представляют собой непостоянную величину ОП встроенного в тест-систему контроля с расчетом для каждой постановки, согласно инструкции производителя («Вектор-Бест», «ЭКОлаб»). Для тест-систем производителя «SIEMENS» значение «cut-off» является величиной постоянной, равной 0,2.

Обоснованием расчета оптимального содержания целевого маркера (2–3 «cut-off») в рабочих разведениях ВЛК, явились рекомендации ВОЗ [24].

Определение достоверности различий между показателями ОП IgM- и IgG-антител к вирусам кори и краснухи в исследуемых образцах ВЛК проводили с помощью метода параметрической статистики — двухвыборочного t-теста (критерий Стьюдента) с различными дисперсиями средних значений ОП [2, 11]. Для оценки результатов изменений ОП специфических антител при различных разведениях исходного образца ВЛК использовали однофакторный регрессионный анализ [8, 15].

Все исследования проводились на базе референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ, МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского (Москва).

Результаты

Результаты тестирования образцов ВЛК с помощью тест-систем производителей «Вектор-Бест», «ЭКОлаб» и «SIEMENS» показали, что все образцы ВЛК, содержащие IgM антитела к вирусам кори/краснухи, обладают специфической активностью, которая регистрируется в тест-системах этих производителей (табл. 1).

Показатели ОП IgM, полученные при анализе контролей «Корь-IgM с.1», «Корь-IgM с.2» и «Рубелла-IgM» с помощью тест-систем «Вектор-Корь IgM» и «ИФА-краснуха IgM» были достоверно выше значений ОП, полученных с использованием тест-систем «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM» и «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM» ($p < 0,05$).

Антитела класса IgM в образце ВЛК «Корь-IgM с.1» были определены в тест-системах «Вектор-Корь IgM» ($1,33 \pm 0,02$) о.е., а результат ОП IgM ($0,18 \pm 0,02$) о.е., полученный с помощью тест-систем «Enzygnost® Anti-measles Virus/IgM», согласно критериям оценки производителя, находился в «серой зоне» при значении «cut-off» = 0,2.

При исследовании образцов ВЛК «Корь-IgG» и «Рубелла-IgG» на содержание антител класса IgG установлено, что показатель ОП высокоavidных ($83,4 \pm 0,95$)% краснушных IgG в исходном растворе ВЛК «Рубелла-IgG», полученный с помощью тест-систем «ЭКОлаб», был достоверно выше значения ОП IgG, которое было определено в тест-системах производителя «SIEMENS»: ($1,45 \pm 0,02$) о.е. против ($0,7 \pm 0,05$) о.е. при $p < 0,05$. Показатель ОП коревых IgG при исследовании образцов ВЛК «Корь-IgG» с помощью тест-систем «Вектор-Бест» был достоверно выше значения, полученного с помощью тест-систем «SIEMENS»: ($0,89 \pm 0,02$) о.е. против ($0,6 \pm 0,03$) о.е. при $p < 0,05$ соответственно.

Подбор разведений контрольного препарата «Корь-IgM с.2», обладающих оптимальной активностью специфических антител к вирусам кори/краснухи (2–3 «cut-off»), проводили с помощью тест-систем производителей «Вектор-Бест» и «SIEMENS». Зависимость изменений ОП специфических антител от степени разведения исходного образца ВЛК была получена с помощью однофакторного регрессионного анализа. В результате моделирования для тест-систем производителей «Вектор-Бест» и «SIEMENS» были получены степенные выражения следующего вида:

$$Y_1 = 4,169 \times X^{-0,719} \text{ (1)} \text{ и } Y_2 = 0,746 \times X^{-0,533} \text{ (2)},$$

где: Y_1 — значения ОП, полученные при использовании тест-системы «Вектор-Бест», о.е.; Y_2 — значения ОП, полученные при использовании тест-системы «SIEMENS», о.е.; X — значения разведений исходного образца.

Коэффициент детерминации (R^2) для выражения (1) и (2) составляет 97,34 и 99,29 соответственно, значения критерия Фишера (F) для выражений (1) и (2) — 219,62 и 556,55 соответственно, уровень значимости (p) — 0,000 ($< 0,05$) и 0,000 ($< 0,05$) соответственно, что демонстрирует статистическую достоверность и высокую

Таблица 1. Средние значения показателей специфической активности ВЛК в тест-системах для определения коревых и краснушных антител классов IgM и IgG и достоверность их различий

Table 1. The mean values of the ILC ("in-house" laboratory control) specific activity in the ELISA test-systems for the determination of measles and rubella IgM and IgG antibodies and significance of their differences

| ВЛК ILC | Тест-система (фирма) Test-system (firm) | Среднее значение ОП (о.е.) Mean value OD (o.u.) | Дисперсия (D) Dispersion (D) | t-статистика t-statistics | t-критическое t-critical | Уровень значимости (p) Significance level (p) |
|---------------------------------|---|--|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------|--|
| Корь-IgM с.1 Measles-IgM s.1 | ВектоКорь IgM (Вектор-Бест) VectoMeasles IgM (Vector-Best) | 1,33 | 0,006 | 68,51 | 2,06 | 5,65E-30 ($< 0,05$) |
| | IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM (SIEMENS) | 0,18 | 0,0003 | | | |
| Корь-IgM с.2 Measles-IgM s.2 | ВектоКорь IgM (Вектор-Бест) VectoMeasles IgM (Vector-Best) | 2,83 | 0,02 | 59,78 | 2,03 | 7,85E-30 ($< 0,05$) |
| | IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM (SIEMENS) | 0,70 | 0,007 | | | |
| Рубелла-IgM Rubella-IgM | ИФА-Краснуха IgM (ЭКОлаб) ELISA-Rubella IgM (ECOlab) | 2,92 | 0,0425 | 41,748 | 2,026 | 9,97E-33 ($< 0,05$) |
| | IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM (SIEMENS) | 0,88 | 0,0146 | | | |
| Корь-IgG Measles-IgG | ВектоКорь IgG (Вектор-Бест) VectoMeasles IgG (Vector-Best) | 0,89 | 0,018 | 9,32 | 2,030 | 5,21E-11 ($< 0,05$) |
| | IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG (SIEMENS) | 0,60 | 0,005 | | | |
| Рубелла-IgG Rubella-IgG | ИФА-Краснуха IgG (ЭКОлаб) ELISA-Rubella IgG (ECOlab) | 1,45 | 0,004 | 30,083 | 2,023 | 1,34E-28 ($< 0,05$) |
| | IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgG (SIEMENS) | 0,70 | 0,011 | | | |

информативность полученных степенных моделей. Графическая интерпретация выражений (1) и (2) представлена на рисунке.

Результаты расчетов зависимостей ОП специфических антител от разведений исходного образца ВЛК, представленные на рисунке, показывают, что направленность изменений ОП, полученная с помощью указанных тест-систем, совпадает. Однако выраженность изменений величины ОП образца в изученных тест-системах различна, что согласуется с результатами в таблице 1 и подтверждает различия в чувствительности тест-систем разных форматов. Полученные данные позволили установить, что разведения образцов ВЛК, которые обеспечивают получение рекомендуемой величины (2–3 «cut-off») целевого маркера, составляют для тест-системы производителя «Вектор-Бест» 1:10 (ОП = $0,94 \pm 0,06$) о.е., а для тест-системы «SIEMENS» 1:4 (ОП = $0,4 \pm 0,04$) о.е. Таким же образом были определены разведения образцов ВЛК, содержащие специфические антитела к вирусам кори/краснухи (2–3 «cut-off»), для других видов контрольных препаратов (табл. 2).

С помощью тест-систем «capture» формата «ВектоКорь IgM», «ИФА-краснуха IgM» были определены разведения образцов ВЛК «Корь-IgM с.2» (1:10) и «Рубелла-IgM» (1:8), содержа-

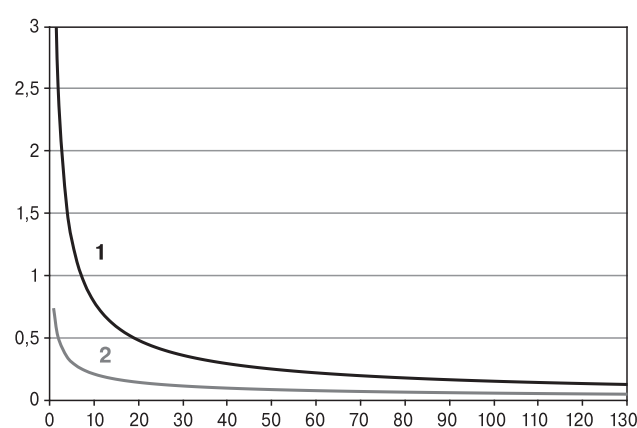


Рисунок. Зависимость изменений оптической плотности ВЛК «Корь IgM с.2» от разведения исходного образца при использовании тест-системы «Вектор-Бест» (линия 1) и тест-системы «SIEMENS» (линия 2)

Figure. The dependence of the optical density changes ILC "Measles IgM с.2" dilution of the original sample using the test-system "Vektor-Best" (line 1) and the test system, "SIEMENS" (line 2)

Ось ординат: оптическая плотность образца, о.е.
Ось абсцисс: значения разведений образца ВЛК.
y-axis: optical density of the sample ILC (o.u.).
x-axis: significance dilution of the sample ILC.

Таблица 2. Результаты определения оптимального разведения ВЛК, содержащего 2–3 «cut-off» целевого маркера к вирусам кори/краснухи, в тестах разного формата

Table 2. The results of the determination of the ILC ("in-house" laboratory control) optimal dilutions containing 2–3 «cut-off» of the target marker to the measles/rubella viruses in the tests of different formats

| ВЛК ILC | Рабочее разведение Working dilution | Тест-системы (формат) Test-systems (format) | Количество «cut-off» Quantity of the «cut-off» |
|--|--|---|---|
| Корь-IgM с. 1 Measles-IgM s. 1 | 1:2 не разв./undil. | ВектоКорь IgM/VectoMeasles IgM IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM | (capture) (indirect) 2,3 < 1* |
| Корь-IgM с. 2 Measles-IgM s. 2 | 1:10 1:4 | ВектоКорь IgM/VectoMeasles IgM IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM | (capture) (indirect) 2,7 2,0 |
| Рубелла-IgM Rubella-IgM | 1:8 1:4 | ИФА-краснуха IgM/ELISA-rubella IgM IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM | (capture) (indirect) 2,1 2,3 |
| Корь-IgG Measles-IgG | 1:2 не разв./undil. | ВектоКорь IgG/VectoMeasles IgG IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG | (indirect) (indirect) 2,7 3,0 |
| Рубелла-IgG Rubella-IgG | 1:4 не разв./undil. | ИФА-краснуха IgG/ELISA-rubella IgG IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgG | (indirect) (indirect) 2,5 3,0 |

Примечание. * Значение коревых IgM менее 1 «cut-off» в исходном образце ВЛК «Корь-IgM с.1», не позволяет использовать его в тест-системах «indirect» формата «IgEnzygnost® Anti-MeaslesVirus/IgM» по назначению.

Notes. *Measles IgM value less than 1 «cut-off» in the initial «Measles-IgM series 1» ILC makes impossible to use this ILC for Measles IgM testing by the ELISA test-systems of «indirect» format i.e.«IgEnzygnost® Anti-MeaslesVirus/IgM».

шие 2–3 «cut-off» целевого маркера. Образец ВЛК «Корь-IgM с.1», из-за относительно низкой исходной специфической активности (ОП = 1,33±0,02) о.е, может использоваться в тест-системах «capture» формата «ВектоКорь IgM» в разведении 1:2.

Разведения образцов ВЛК «Корь-IgM с.2» и «Рубелла-IgM», которые обеспечивают получение рекомендуемой величины (2–3 «cut-off») целевого маркера в тест-системах indirect формата («IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM» и «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM») были одинаковыми — 1:4.

Образцы ВЛК Корь-IgG и Рубелла-IgG могут быть использованы в тест-системах «ВектоКорь IgG», «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG» и «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgG» в разведе-

нии 1:2, а разведение 1:4 образцов ВЛК «Рубелла-IgG» в тест-системах indirect формата «ИФА-краснуха IgG», обеспечивает специфическую активность (2–3 «cut-off») целевого маркера.

Как было показано выше, исходным материалом для приготовления образцов ВЛК был пул сывороток крови, полученный от больных, переболевших корью и краснухой и доноров, в связи с чем не исключена вероятность содержания нецелевых маркеров к вирусам кори/краснухи в исходных образцах ВЛК. В результате исследований контрольных препаратов по определению нецелевых маркеров было установлено, что исходные образцы ВЛК «Корь-IgM с.1» «Корь-IgM с.2» не содержат антитела IgM класса к вирусу краснухи, а в образцах «Рубелла-IgM» не выявлены коревые

Таблица 3. Результаты определения нецелевых маркеров (IgG) в разведениях ВЛК, содержащих 2–3 «cut-off» целевых маркеров вирусов кори/краснухи

Table 3. The results of determination of the non-target markers (IgG) in dilutions of "in-house" laboratory controls (ILC) containing 2–3 «cut-off» of the target markers the measles/rubella viruses

| ВЛК ILC | Разведения ВЛК, содержащие 2–3 «cut-off» целевого маркера ICL dilutions, containing 2–3 «cut-off» values of the target marker | ВектоКорь IgG VectoMeasles IgG | ИФА-Краснуха IgG ELISA-Rubella IgG |
|--|--|-----------------------------------|---------------------------------------|
| Корь-IgM с.1 Measles-IgM s.1 | 1:2 (capture) 1:2 (capture) | отрицательный negative | отрицательный negative |
| Корь-IgM с.2 Measles-IgM s.2 | 1:4 (indirect) 1:4 (indirect) | положительный positive | отрицательный negative |
| Корь-IgM с.2 Measles-IgM s.2 | 1:10 (capture) 1:10 (capture) | отрицательный negative | отрицательный negative |
| Краснуха-IgM Rubella-IgM | 1:4 (indirect) 1:4 (indirect) | отрицательный equivocal | отрицательный equivocal |
| Краснуха-IgM Rubella-IgM | 1:8 (indirect) 1:8 (indirect) | отрицательный negative | отрицательный negative |

IgM. Не определены маркеры острой инфекции (IgM) к вирусам кори/краснухи в ВЛК «Корь-IgG» и в «Рубелла-IgG».

Ни краснушные, ни коревые антитела IgG класса в исходном образце ВЛК «Корь-IgM с.1» выявлены не были. В образцах ВЛК «Корь-IgM с.2», помимо коревых антител IgG класса, содержание которых было определено с использованием тест-систем производителей «ВекторБЕСТ» и «SIEMENS»: $(2,7 \pm 0,05)$ о.е. и $(2,1 \pm 0,02)$ о.е. соответственно, были обнаружены краснушные высокоавидные IgG $(79,8 \pm 1,4)\%$, с помощью тест-систем производителей «ЭКОлаб» $(0,65 \pm 0,04)$ о.е. и «SIEMENS» $(0,48 \pm 0,03)$ о.е. В контрольном препарате «Рубелла-IgM», кроме краснушных низкоавидных $(12,0 \pm 0,095)\%$ IgG, определены коревые высокоавидные $(74,0 \pm 1,2)\%$ антитела класса IgG с помощью тест-систем производителей «Вектор-Бест» $(0,54 \pm 0,03)$ о.е. и «SIEMENS» $(0,55 \pm 0,04)$ о.е.

В связи с тем, что исключить отрицательно-го влияния нецелевых IgG-антител на выявление целевых маркеров (IgM) нельзя [24] были проведены исследования по определению IgG-антител к вирусам кори/краснухи в образцах разведений ВЛК, содержащих 2–3 «cut-off» целевого маркера (IgM). Определение нецелевых маркеров (IgG) к вирусам кори/краснухи было проведено с помощью тест-систем «ВектоКорь IgG» и «ИФА-краснуха IgG» (табл. 3).

При исследовании разведений образцов ВЛК «Корь-IgM с.1» (1:2) и «Корь-IgM с.2» (1:4, 1:10) краснушные IgG-антитела выявлены не были, а коревые IgG были определены с помощью тест-системы «ВектоКорь IgG» $(0,92 \pm 0,02)$ о.е. в образце «Корь-IgM с.2» в разведении 1:4. Согласно критериям оценки производителей, показатель ОП IgG-антител к вирусам кори/краснухи при исследовании образцов ВЛК «Рубелла-IgM» находился в «серой зоне» при разведении 1:4 и в «отрицательной зоне» в разведении 1:8.

Обсуждение

Попытка введения контроля качества лабораторных неколичественных исследований при использовании ИФА была осуществлена в 2003–2004 гг. при скрининг-тестировании сывороток на анти-ВИЧ-1. Авторами были предложены контрольные образцы, с помощью которых была дана оценка сходимости и воспроизводимости результатов анализа [1, 16, 18, 21].

Согласно требованиям, установленным нормативными документами ВОЗ, МЗ России, а также организациями по разработке международных стандартов, такими как Международная организация по стандартизации (ISO), надежность лабораторных исследований, про-

водимых методом ИФА, обеспечивается и контролируется путем введения двух взаимосвязанных форм контроля качества: внешней оценки качества (ВОК) и использования внутрилабораторного контроля (ВЛК) [10, 12, 19, 24]. В рамках реализации программы элиминации кори и краснухи с 2003 г. ЕРБ ВОЗ ежегодно осуществляет ВОК лабораторий стран СНГ и России путем аккредитации, одним из критериев которой является решение задачи по расшифровке панели сывороток методом ИФА [5]. Кроме того, каждая лаборатория самостоятельно формирует образцы ВЛК из пула положительных сывороток, который использует далее при серологических исследованиях методом ИФА. Однако такая процедура приготовления ВЛК связана с определенными трудностями при отборе необходимых образцов. С 2015 г. лабораторная сеть России и стран СНГ использует единые образцы ВЛК к вирусам кори/краснухи. Образцы ВЛК относятся к традиционным контрольным препаратам, которые по данным ISO и ВОЗ [12], в отличие от встроенных в тест-системы контролей, полнее оценивают правильность всей аналитической системы.

Полученные нами результаты оценки образцов ВЛК показывают возможность использования образцов ВЛК в тест-системах производителей «SIEMENS», «ЭКОлаб» и «Вектор-Бест». Данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют о различной чувствительности используемых тест-систем и необходимости подбора разведений образцов ВЛК, обладающих оптимальной активностью специфических антител к вирусам кори/краснухи (2–3 «cut-off») для проведения контроля качества исследований методом ИФА. При этом значения специфической активности (ОП) IgM и IgG в образцах ВЛК, содержащих 2–3 «cut-off» целевого маркера зависят от особенностей (формата) используемой тест-системы. Это подтверждает известное положение о том, что формат тест-системы, а также природа сорбированных на планшете антигенов, определяют чувствительность тест-систем. Показатели ОП IgM, полученные при анализе образцов ВЛК «Корь-IgM с.1» и «Корь-IgM с.2» с помощью тест-систем «ВектоКорь IgM», были достоверно выше значений, полученных с использованием наборов «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM»: $(1,33 \pm 0,02)$ о.е. против $(0,18 \pm 0,01)$ о.е. при $p < 0,05$ и $(2,83 \pm 0,03)$ о.е. против $(0,7 \pm 0,02)$ о.е. при $p < 0,05$. В образцах «Рубелла-IgM» значения ОП IgM в наборах «ИФА-краснуха IgM» также были достоверно выше показателей, полученных с помощью «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM»: $(2,92 \pm 0,04)$ о.е. против $(0,88 \pm 0,03)$ о.е. при $p < 0,05$.

Различия, как это было показано авторами настоящей работы ранее [6], а также в работах других авторов [14, 22], связаны с модифика-

циями используемых наборов: тесты «capture» формата («ВектоКорь IgM» и «ИФА-краснуха IgM»), обладают достоверно большей чувствительностью по сравнению с тестами indirect формата: «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgM» и «IgEnzygnost® Anti-Rubella Virus/IgM». Как видно из результатов, представленных в таблице 1, ВЛК «IgM-корь с.1» не может быть использован для оценки чувствительности тест-систем indirect формата из-за низкого содержания специфических антител (менее 1 «cut-off»). В то же время, выявление специфических антител одного класса с помощью тест-систем разных форматов свидетельствует о возможности более широкого использования образцов ВЛК в лабораторной практике. Как известно, чувствительность тест-систем определяется не только форматом набора, но и природой антигенов, сорбированных на планшете. Результаты, полученные при тестировании исходных растворов ВЛК «Корь IgG» с помощью тест-систем indirect формата «ВектоКорь IgG» и «IgEnzygnost® Anti-Measles Virus/IgG», выявили различия в содержании коревых IgG: $(0,89 \pm 0,02)$ о.е. против $(0,6 \pm 0,03)$ о.е. при $p < 0,05$ соответственно (табл. 1), что, возможно, связано с использованием в тест-системах «Вектор-Бест» рекомбинантных белков, в отличие от лизатных антигенов в тест-системах производителя «SIEMENS».

До настоящего времени нет единого мнения о том, какой должна быть величина целевых и нецелевых маркеров в образцах ВЛК. Однако, как было сказано выше, исключить отрицательного влияния нецелевых IgG-антител на выявление целевых маркеров (IgM) нельзя [24], поэтому были проведены исследования рабочих разведений образцов ВЛК на содержание нецелевых маркеров (коревых и краснушных IgG) в IgM-содержащих образцах ВЛК («Корь-IgM с.1», «Корь-IgM с.2», «Рубелла-IgM»). Полученные результаты показали, что только в одном случае (разведение 1:4 образца ВЛК «Корь-IgM с.2») результат ОП IgG к вирусу кори был расценен как положительный $(0,92 \pm 0,02)$ о.е. — $0,35$ МЕ/мл. Полученные данные, скорее всего, свидетельствуют об отсутствии нецелевых маркеров (IgG) в разведениях образцов ВЛК, содержащих 2–3 «cut-off» целевого маркера что само по себе снимает вопрос об их влиянии на выявление IgM.

Что же касается содержания целевых маркеров в рабочих разведениях ВЛК, то, с одной стороны, по рекомендациям ВОЗ [24], контрольный препарат должен иметь показатель активности целевого маркера 2–3 «cut-off». В то же время другие исследователи в качестве количественного показателя целевого маркера в ВЛК предлагают использовать значения ОП специфических антител в диапазоне 0,5–1,5 о.е. [10]. Однако эти показатели, несмотря на совпадения для некоторых тест-

систем, имеют разные характеристики. Как было отмечено выше, для одних тестов (производитель «SIEMENS») показатель «cut-off» — величина постоянная, равная 0,2; для других (Вектор-Бест, ЭКОлаб) «cut-off» — это величина ОП встроенного контрольного образца, показатели которого могут меняться при каждой новой постановке. Отмечено, что значение «cut-off», как показатель встроенного контроля, снижается на протяжении срока годности тест-системы. При этом «кривая» ВЛК на стандартной карте Леви–Дженингса может отклоняться от среднего значения контрольного препарата за пределы 3-х стандартных отклонений (SD), что является, согласно правилам Вестгарда, критерием недостоверности результатов, полученных методом ИФА при серологических исследованиях [23].

Более рациональным путем, по нашему мнению, идут производители, использующие коэффициенты, корригирующие результаты ИФА с учетом номинального значения встроенного контроля и его показателя текущей постановки при постоянном значении «cut-off». При таком подходе для оценки чувствительности тест-систем содержание целевого маркера может быть менее 2-х «cut-off», близким к границе чувствительности тест-системы [9, 12], что позволит более качественно оценивать используемые тест-системы для ИФА, избегать систематических ошибок и получать более достоверные результаты. Примером положительной и результативной оценки тест-систем могут быть данные исследований зарубежных авторов, проведенных совместно с производителями при определении антител к ВИЧ-1/2 методом ИФА с использованием ВОК лабораторий и отслеживания результатов в режиме «реального времени» [19, 20].

Таким образом, результаты исследования образцов ВЛК к маркерам вируса кори/краснухи, полученные на базе региональной референс-лаборатории ВОЗ (Москва), могут быть использованы для контроля качества исследований методом ИФА, проводимых для определения специфических IgM- и IgG-антител. Эти результаты могут представлять интерес не только для лабораторных работников, но и для фирм-производителей и разработчиков тест-систем при подготовке рекомендаций по интерпретации результатов тестирования методом ИФА.

Выводы

1. С помощью тест-систем разных производителей и форматов (Вектор-Бест, ЭКОлаб, SIEMENS) показаны достоверно значимые различия в оценке специфической активности (ОП) образцов ВЛК, содержащих специфические антитела к вирусам кори/краснухи: «Корь-IgM с.1», «Корь-IgM с.2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG».

2. Достоверно значимые различия в показателях ОП целевых маркеров (IgM, IgG) к вирусам кори/краснухи, полученные с использованием тест-систем разных форматов, свидетельствуют о необходимости учета модификаций, используемых тест-систем при расчете рабочего показателя числа «cut-off» и оценки результатов ИФА.
3. Рекомендуемые авторами настоящей работы разведения IgM-содержащих образцов ВЛК, позволяют исключить влияние нецелевых маркеров (IgG) на выявление целевых маркеров (IgM) и обеспечивают получение искомой величины показателя 2–3 «cut-off» специфического маркера.
4. Показана возможность использования образцов ВЛК, содержащих специфические антитела к вирусам кори/краснухи: «Корь-IgM с.1», «Корь-IgM с.2», «Рубелла-IgM», «Корь-IgG», «Рубелла-IgG» в качестве контрольных препаратов при серологических исследованиях в рамках надзора за корью и краснухой в России и странах СНГ методом ИФА.

Список литературы/References

1. Бобкова М.Р., Буравцова Е.В., Калашникова Т.В., Покровский В.В., Суворова З.К. Применение контрольных образцов для внутрилабораторного контроля качества скринингового ИФА на наличие антител к ВИЧ. М., 2004. [Bobkova M.R., Buravtsova E.V., Kalashnikova T.V., Pokrovskiy V.V., Suvorova Z.K. Primenenie kontrol'nykh obraztsov dlya vnutrilaboratornogo kontrolya kachestva skringovogo IFA na nalichie antitel k VICH [The use of control samples for internal quality control screening ELISA for the presence of antibodies to HIV]. Moscow, 2004.]
2. ГОСТ Р ИСО 5725-5-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. М.: Госстандарт России, 2002. С. 2–3. [GOST R ISO 5725-5-2002. Tochnost' (pravil'nost' i pretsizionnost') metodov i rezul'tatov izmerenii. Chast' 1 [Accuracy (correctness and precision) of measurement methods and results. Part 1]. Moscow: Russian State Standard, 2002, pp. 2–3.]
3. ГОСТ Р ИСО 15189-2006. Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности. М.: Стандартинформ, 2007. 34 с. [GOST R ISO 15189-2006. Laboratorii meditsinskie. Chastnye trebovaniya k kachestvu i kompetentnosti [Medical laboratories. Particular requirements for quality and competence]. Moscow: Standartinform, 2007. 34 p.]
4. Мамаева Т.А., Тихонова Н.Т., Наумова М.А., Шульга С.В. Национальная лабораторная сеть Российской Федерации по диагностике кори и ее роль в выполнении программы ВОЗ по ликвидации кори // Здоровье населения и среда обитания. 2007. № 11 (176). С. 4–7. [Mamaeva T.A., Tikhonova N.T., Naumova M.A., Shulga S.V. National laboratory network of the Russian Federation for the diagnosis of measles and its role in the implementation of the program to eliminate measles WHO. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Human Health and the Environment Inhabitation, 2007, no. 11 (176), pp. 4–7. (In Russ.)]
5. Мамаева Т.А., Железнова Н.В., Наумова М.А., Говорухина М.В., Калашникова Н.А., Бичурина М.А., Мукомолов С.Л. Алгоритм лабораторного подтверждения и дифференциальной диагностики коревой инфекции в период элиминации кори в Российской Федерации // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 1. С.55–62. [Mamaeva T.A., Zheleznova N.V., Naumova M.A., Govoruhina M.V., Kalashnikova N.A., Bichurina M.A., Mukomolov S.L. Algorithm of laboratory confirmation and differential diagnosis of measles infection at the stage of the measles elimination program in Russia. Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 55–62. doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-55-62 (In Russ.)]
6. Мамаева Т.А., Наумова М.А., Железнова Н.В., Тураева Н.В., Баранов Н.И., Говорухина М.В., Владимировна Н.П., Липская Г.Ю. Итоги работы лабораторной сети по реализации программы ликвидации кори в РФ в 2003–2013 гг. // Здоровье населения и среда обитания. 2015. № 3. С. 51–54 [Mamaeva T.A., Naumova M.A., Zheleznova N.V., Turaeva N.V., Baranov N.I., Govoruhina M.V., Vladimirova N.P., Lipskaya G.Y. Results activities of the laboratory network on measles eradication program in the Russian Federation 2003–2013. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Human Health and the Environment Inhabitation, 2015, no. 3, pp. 51–54. (In Russ.)]
7. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии. Теоретическая статистика: в 2 т. Под ред. Ю.М. Комарова. М.: Медицина, 2000. Т. 1. 412 с. [Medik V.F., Njkmachev M.S., Fishman B.B. Statistika v meditsine i biologii. Teoreticheskaya statistika [Statistics in medicine and biology. Theoretical statistics: in 2 vol.]. Ed. Y.M. Komarov. Moscow: Meditsina, 2000. Vol. 1. 412 p.]
8. Нетесова Е.Г., Ярославцева О.А., Цой Л.В., Жуков В.А., Нетесов С.В. Результаты участия 360 лабораторий России в Программе внешней оценки качества исследований HBsAg // Клиническая лабораторная диагностика. 2007. № 3. С. 47–50. [Netesova I.G., Yaroslavtseva O.A., Tsoy L.V., Zhukov V.A., Netesov S.V. Results of the participation of 360 laboratories of Russia in the external quality assessment program for HBsAg tests. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics, 2007, no. 3, pp. 47–50. (In Russ.)]
9. О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации: Приказ Минздрава России от 07.02.2000 № 45. [O sisteme mer po povysheniyu kachestva klinicheskikh laboratornykh issledovaniy v uchrezhdeniyakh zdravookhraneniya Rossiiskoi Federatsii: Prikaz Minzdrava Rossii ot 07.02.2000 № 45 (On the system of measures to improve the quality of clinical laboratory tests in the Russian Federation health facilities: The Russian Ministry of Health Order from 07.02.2000 No 45)]
10. Ризниченко Г.Ю. Лекции по математическим моделям в биологии. М.–Ижевск: Изд-во РХД, 2011. 560 с. [Riznichenko G.Y. Lektsii po matematicheskim modelyam v biologii [Lectures on mathematical models in biology]. Moscow–Izhevsk: Publishing House RHD, 2011. 560 p.]
11. Система управления качеством в лабораториях. ВОЗ, 2013. 270 с. [Laboratory quality management system. WHO, 2013, 270 p.]

12. Гланц С.А. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. Под ред. Ю.А. Данилова. М.: Изд-во «Практика», 1999. 462 с. [Glantz S.A. Mediko-biologicheskaya statistika: per. s angl. Pod red. Yu.A. Danilova. [Biomedical statistics. Ed. Yu.A. Danilov]. Moscow: Publishing House "Practica", 1999. 462 p.]
13. Тихонова Н.Т., Мамаева Т.А., Шульга С.В., Ежлова Е.Б., Лыткина И.Н., Цвиркун О.В., Герасимова А.Г. Лабораторное обеспечение Программы ликвидации эндемичной кори в Российской Федерации // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. № 1. С. 36–39. [Tikhonova N.T., Mamaeva T.A., Shul'ga S.V., Ezhlova E.B., Lytkina I.N., Tsvirkun O.V., Gerasimova A.G. Laboratory support of the Program elimination of endemic measles in the Russian Federation. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2011, no. 1, pp. 36–39. (In Russ.)]
14. Arista S., Ferraro D., Cascio A., Vizzi E., Di Stefano R. Detection of IgM antibodies specific for measles virus by capture and indirect enzyme immunoassays. *Res. Virol.*, 1995, vol. 3, no. 146, pp. 225–232.
15. Bang H., Davidjan M. Experimental statistics for biological sciences. *Methods Mol. Biol.*, 2010, no. 620, pp. 3–104. doi: 10.1007/978-1-60761-580-4_1
16. Constantine N.T., Saville R.D., Dax E.M. Retroviral testing and quality assurance: essentials for laboratory diagnosis. *MedMira Laboratories, Halifax, Canada*.
17. Dietz V., Rota J., Izurieta H., Carrasco P., Bellini W. The laboratory confirmation of suspected measles cases in setting of low measles transmission: conclusions from the experience in the American 2004. *Herald of the World Health Organization*, 2004, vol. 82, no. 11, pp. 852–857.
18. Fiebig E.W., Wright D.J., Rawal B.D., Garrett P.E., Schumacher R.T., Peddada L., Heldebrant C., Smith R., Conrad A., Kleinman S.H., Busch M.P. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS*, 2003, no. 17, pp. 1871–1879.
19. International Organization for Standardization. Medical laboratories: particular requirements for quality and competence. ISO 15189. *International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland*, 2007.
20. Kim J., Swantee C., Lee B., Gunning H., Chow A., Sidaway F., Sherlock C., Garceau R., Dimech W., Malloch L.; CAHCLS Laboratories. Identification of performance problems in a commercial human immunodeficiency virus type 1 enzyme immunoassay by multiuser external quality control monitoring and real-time data analysis. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, vol. 47, no. 10, pp. 3114–3120. doi: 10.1128/JCM.00892-09
21. Perry K.R., Ramskill S., Eglin R.P., Barbara J.A.J., Parry J.V. Improvement in the performance of HIV screening kits. *Transfus. Med.*, 2008, no. 18, pp. 228–240.
22. Ratnam S., Tipples G., Head C., Fauvel M., Fearon M., Ward B.J. Performance of indirect immunoglobulin M (IgM) serology test and IgM capture assays for laboratory diagnosis of measles. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, no. 38, pp. 99–104.
23. Westgard J.O., Barry P.L. Basic QC practices: training in statistical quality control for healthcare laboratories; 2nd ed. *Westgard QC, Inc., Madison, WI 2002*. 26 p.
24. WHO. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection; 2nd ed. *Geneva, Switzerland: WHO*, 2006, pp. 58–65.

Авторы:

Мамаева Т.А., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;
Железнова Н.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник, ФБУН Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Наумова М.А., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;
Чехляева Т.С., младший научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;
Воробейчиков Е.В., к.м.н., старший научный сотрудник «НПО Полифарм», Санкт-Петербург, Россия.
Бен Маму М., координатор лабораторной сети корь/краснуха Европейское региональное бюро ВОЗ, Копенгаген, Дания;
Алешкин В.А., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАЕН, директор ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия.

Authors:

Mamaeva T.A., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Immunochemistry, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;
Zheleznova N.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Viral Hepatitis, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Naumova M.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunochemistry, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;
Chekhlyayeva T.S., Junior Researcher, Laboratory of Immunochemistry, G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;
Vorobeychikov E.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, "Polypharm Ltd.", St. Petersburg, Russian Federation;
Ben Mamou M., Measles/Rubella Laboratory Coordinator, Regional Office for Europe World Health Organization, Copenhagen, Denmark;
Aleshkin V.A., Corresponding Member of the RANS, PhD, MD (Biology), Professor, Director of the G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.

ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ ИММУНИТЕТА К ВИРУСУ КОРИ В ОТДЕЛЬНЫХ ГРУППАХ НАСЕЛЕНИЯ ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ В РАМКАХ ГЛОБАЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ЭЛИМИНАЦИИ КОРИ. СООБЩЕНИЕ 2

А.Ю. Попова¹, М.А. Бичурина², И.Н. Лаврентьева², Н.В. Железнова²,
А.Ю. Антипова², С.А. Щербакова³, М.Й. Буаро⁴, Арег А. Тотолян²

¹ Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия

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

³ ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора,
г. Саратов, Россия

⁴ НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика

Резюме. Задача элиминации кори в глобальном масштабе к 2010–2020 гг. была признана одной из приоритетных в программе ВОЗ «Здоровье для всех в XXI веке» (1998 г.). Однако, в период 2010–2016 гг. регистрировалась вспышечная заболеваемость корью, в том числе в США и ряде Европейских стран с высоким уровнем охвата вакцинацией. Были зарегистрированы крупные вспышки кори и на Африканском континенте, в том числе и в Гвинейской Республике, что связано со снижением уровня охвата вакцинацией против кори из-за эпидемии лихорадки Эбола, распространившейся в стране в 2014–2015 гг. ВОЗ рекомендует проводить кампании дополнительной иммунизации против кори после прекращения передачи вируса Эбола. Очевидно, что повышение эффективности таких кампаний связано с выявлением эпидемически значимых возрастных групп населения, подлежащих дополнительной вакцинации. Цель данного исследования — определение уровня иммунитета к кори в разных возрастных группах населения Гвинейской Республики. *Материалы и методы.* В ИФА исследовано 25 сывороток крови здоровых взрослых гвинейцев в возрасте от 28 до 66 лет и 121 сыворотка крови, полученные от подростков и взрослых, находившихся на стационарном лечении в госпитале г. Киндия (Гвинейская Республика) в 2016 г. IgM-антитела к вирусу кори выявляли с тест-системой «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)»; IgG-антитела к вирусу кори — с тест-системой «Anti-Measles Virus ELISA (IgG)»; авидность IgG-антител определяли с тест-системой «Avidity: Anti-Measles Virus ELISA (IgG)». Производитель перечисленных тест-систем — Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG (Германия). Часть сывороток исследована на наличие IgM-и IgG-антител к вирусу кори в ИФА с тест-системой «Вектор-Бест IgM-корь» и «Вектор-Бест IgG-корь» (Россия). *Результаты.* Сравнительная количественная оценка IgG-антител к вирусу кори у здоровых взрослых гвинейцев была проведена в 2015 г. и в 2016 г. Только у одного обследованного в возрасте 30 лет не были обнаружены IgG-антитела к вирусу кори. В 68,7% случаев титры IgG-корь в течение

Адрес для переписки:

Лаврентьева Ирина Николаевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИЭМ имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 232-94-11 (служебн.); 8 (921) 341-05-01 (моб.).
E-mail: pasteur.lawr@mail.ru

Contacts:

Irina N. Lavrentieva
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 232-94-11 (office); +7 (921) 341-05-01 (mobile).
E-mail: pasteur.lawr@mail.ru

Библиографическое описание:

Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербакова С.А., Буаро М.Й., Тотолян Арег А. Изучение уровня иммунитета к вирусу кори в отдельных группах населения Гвинейской Республики в рамках глобальной программы элиминации кори. Сообщение 2 // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 79–84. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-79-84

Citation:

Popova A.Yu., Bichurina M.A., Lavrentyeva I.N., Zheleznova N.V., Antipova A.Yu., Shcherbakova S.A., Boiro M.Y., Totolian Areg A. Measles virus immunity level study in particular population groups of the Republic of Guinea within the framework of global measles elimination program. Report 2 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 79–84. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-79-84

года существенно не менялись. В 2016 г. в большинстве (68%) из 25 исследованных сывороток IgG-антитела были выявлены в высоких титрах, равных или превышающих показатель 1000 IU/L; при этом существенно преобладали (87,5%) образцы с высокой avidностью (71,0–100%), что может свидетельствовать о перенесенной ранее кори среди обследованных лиц старше 28 лет. На наличие IgG-антител к вирусу кори были исследованы также сыворотки крови 121 пациента госпиталя г. Киндия, находившихся на стационарном лечении с разными диагнозами. Серонегативными к кори оказались 21 человек. При изучении напряженности иммунитета к вирусу кори среди пациентов известного возраста ($n = 113$), IgG-антитела к вирусу кори обнаружены в 78,8% исследованных образцов. Вместе с тем, в каждой возрастной группе выявлены серонегативные лица, а также лица с низким уровнем противокоревых антител. Среди пациентов 18–40 лет доля серонегативных составила $28,5 \pm 5,1$ от числа обследованных. Эта когорта может быть восприимчива к заражению вирусом кори и способствовать поддержанию и активизации эпидемического процесса при возникновении вспышек коревой инфекции в Гвинейской Республике.

Ключевые слова: Гвинейская Республика, ВОЗ, программа элиминации, корь, заболеваемость, IgG-антитела.

MEASLES VIRUS IMMUNITY LEVEL STUDY IN PARTICULAR POPULATION GROUPS OF THE REPUBLIC OF GUINEA WITHIN THE FRAMEWORK OF GLOBAL MEASLES ELIMINATION PROGRAM. REPORT 2

Popova A.Yu.^a, Bichurina M.A.^b, Lavrentyeva I.N.^b, Zheleznova N.V.^b, Antipova A.Yu.^b, Shcherbakova S.A.^c, Boiro M.Y.^d, Totolian Areg A.^b

^a Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), Moscow, Russian Federation

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

^c Russian Scientific and Research Antiplague Institute "Mikrob", Saratov, Russian Federation

^d Institute of Applied Biology in Guinea, Kindia, Republic of Guinea

Abstract. A goal for measles elimination globally by 2010–2020 was recognized as one of the priorities in the WHO program "Health for All in the 21st Century" (1998). However measles outbreaks occurred in 2010–2016 in countries with high level of measles vaccine coverage including USA and some European countries. Large measles outbreaks were also registered on the African continent and particular in the Republic of Guinea as a result of the decline of measles vaccine coverage due to the Ebola virus epidemic in the Republic of Guinea in 2014–2015. WHO recommends carrying out the routine measles vaccination as well as the supplemental immunization activities after the stop of the Ebola virus transmission. Effectiveness of the activities is definitely connected with the detection of the epidemically significant for the supplemental immunization age groups. The aim of the study was to evaluate the measles immunity level in different age groups of population in the Republic of Guinea. *Materials and methods.* Twenty five blood serum samples of healthy adult Guineans aged 28–66 and 121 blood serum samples of adolescences and adults admitted to hospital in the town of Kindia (Republic of Guinea) for indoor treatment were tested by ELISA. The specific measles virus antibodies were detected using the following commercial ELISA test-systems produced by Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG Company (Germany): IgM-antibodies — by "Anti-Measles Virus ELISA (IgM)", IgG-antibodies — by "Anti-Measles Virus ELISA (IgG)", IgG-avidity measles virus antibodies — by "Avidity: Anti-Measles Virus ELISA (IgG)". A part of sera was studied by "Vector-Best IgM-measles" and "Vector-Best IgG-measles" ELISA test-systems (Russia). *Results and discussion.* The comparative quantitative study of the measles immunity level (i.e. IgG-antibodies titers) of the healthy adult Guineans in 2015 and 2016 revealed the lack of IgG-antibodies in serum of only one person aged 30. In 68.7% of cases studied the IgG-antibodies titers didn't change significantly during the year. In the most part (68.0%) of the 25 tested sera the high levels of the IgG-antibodies titers were detected (≥ 1000 IU/L). In addition the IgG-antibodies of high avidity were revealed in the most part (87.5%) of blood serum samples thus evidencing the history of measles virus infection in the past among the examined adults aged 28+. The ELISA studies of 121 blood serum samples from patients with different clinical diagnosis being on indoor treatment in the hospital of the town of Kindia (Republic of Guinea) revealed 21 anti-measles IgG negative patients. Among patients with the known age ($n = 113$) IgG-antibodies to measles virus were determined in 78.8% of the samples tested. At the same time in each age group the seronegative patients as well as the patients with low titers of the specific IgG-antibodies to measles virus were revealed. Among patients of 18–40 years of age the part of seronegative patients was equal to $28.5 \pm 5.1\%$. This cohort may be susceptible to measles virus infection and facilitate the support as well as the development of active epidemic process in case of measles outbreaks in the Republic of Guinea.

Key words: Republic of Guinea, WHO, elimination program, measles, disease incidence, IgG-antibodies.

Введение

Задача элиминации кори в глобальном масштабе к 2010–2020 гг. была признана одной из приоритетных в программе ВОЗ «Здоровье для всех в XXI веке» (1998 г.). Эта задача успешно решена в Американском регионе, сертифицированном ВОЗ в 2002 г. как регион, свободный от эндемичной кори [8].

Эти успехи достигнуты благодаря выполнению основных задач стратегического плана ВОЗ: поддержанию высокого уровня охвата прививками двумя дозами вакцины против кори ($\geq 95\%$); проведению дополнительной иммунизации восприимчивого населения; усилению системы эпидемиологического надзора за счет тщательного расследования и лабораторного подтверждения каждого подозрительного случая; улучшению доступа населения к высококачественной и достоверной информации о преимушествах и рисках, связанных с вакцинацией.

Однако, в период 2010–2016 гг. регистрировалась вспышечная заболеваемость корью, в том числе в США и ряде Европейских стран с высоким уровнем охвата вакцинацией [3, 5, 7, 8, 11]. Были зарегистрированы крупные вспышки кори и на Африканском континенте [1, 4, 6].

В эти годы отмечен подъем заболеваемости корью и в Гвинейской Республике: по данным ВОЗ, за 11 месяцев 2016 г. число подозрительных на корь случаев равнялось 616, а лабораторно подтвержденных — 290. Показатель заболеваемости составил 2,68 на 100 тыс. населения. Очевидно, подъем заболеваемости связан со снижением уровня охвата вакцинацией против кори с 90–99% в 2010–2013 гг. до 60–62% в 2014–2015 гг. из-за эпидемии лихорадки Эбола, распространившейся в стране в эти годы.

Для снижения риска возникновения и распространения крупных эпидемических вспышек кори на Африканском континенте, ВОЗ рекомендует проводить кампанию дополнительной иммунизации против кори. Очевидно, что повышение эффективности таких кампаний связано с выявлением эпидемически значимых возрастных групп населения, подлежащих дополнительной вакцинации [13].

Цель данного исследования — определение уровня иммунитета к кори в разных возрастных группах населения Гвинейской Республики.

Материалы и методы

Исследовано 146 сывороток крови: 25 сывороток крови практически здоровых взрослых гвинейцев в возрасте от 28 до 66 лет и 121 сыворотка крови от подростков и взрослых, находившихся на стационарном лечении в госпитале г. Киндия (Гвинейская Республика), полученных в 2016 г.

Сыворотки крови исследовали в ИФА на наличие IgM-антител к вирусу кори с тест-системой «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)»; на наличие IgG-антител к вирусу кори с тест-системой «Anti-Measles Virus ELISA (IgG)»; авидность IgG-антител определяли с тест-системой «Avidity: Anti-Measles Virus ELISA (IgG)». Перечисленные тест-системы производства Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG (Германия) использовали в соответствии с инструкцией по применению. Часть сывороток исследована на наличие IgM- и IgG-антител к вирусу кори в ИФА с тест-системой «Вектор-Бест IgM-корь» и «Вектор-Бест IgG-корь» (Россия).

Статистическая обработка данных проводилась методом параметрической статистики с использованием t-критерия Стьюдента для определения значимости различий между явлениями. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При исследовании сывороток крови, полученных в 2016 г. от 25 практически здоровых взрослых (3 женщины и 22 мужчин) на наличие IgM-антител к вирусу кори с использованием тест-системы «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)», производства Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG (Германия), IgM-корь-антитела были выявлены в четырех образцах. При исследовании этих же образцов с тест-системой «Вектор-Бест IgM-корь» (Россия), результаты были отрицательными. В этих же четырех сыворотках крови выявлены высокие титры IgG-корь антител (более 2000 IU/L) с высокой авидностью (более 83,5%). В трех из четырех образцов выявлены также IgM-антитела к цитомегаловирусу и вирусу Эпштейна–Барр.

Вероятно, выявление IgM-антител к вирусу кори в четырех образцах при использовании тест-системы «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)», следует расценивать как ложноположительные результаты, обусловленные неспецифическими факторами, допустимая частота которых, как указано фирмой Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, может достигать 29% при наличии в сыворотках IgM-антител к вирусу Эпштейна–Барр [10].

Сравнительная количественная оценка IgG-антител к вирусу кори у 17 практически здоровых взрослых гвинейцев была проведена путем исследования сывороток крови, взятых в 2015 [1] и в 2016 гг. Суммированные данные о титре IgG-антител к вирусу кори, полученные с интервалом в один год, представлены в таблице 1. При оценке титров IgG-антител в динамике, колебания значений не превышавшие 275,0 IU/l (отрицательная и сомнительная зоны в тест-системе Anti-Measles Virus ELISA (IgG), Euroimmun) считали не существенными.

Только у одного обследованного в возрасте 30 лет не были обнаружены IgG-антитела к вирусу кори, как в 2015 г., так и в 2016 г. У 11 человек (68,7%) титры IgG-корь антител в течение года существенно не менялись. Снижение титра наблюдалось, в основном, у лиц, которые имели высокий титр IgG в 2015 г.

В 2016 г. в большинстве (68%) из 25 исследованных сывороток IgG-антитела были выявлены в высоких титрах, равных или превышающих показатель 1000 IU/L; при этом существенно преобладали (95,8%) образцы с высокой авидностью (табл. 2, рис.). Учитывая, что в Гвинейской Республике проводится только однократная вакцинация против кори детей в возрасте 9 месяцев, полученные результаты могут свидетельствовать о перенесенной ранее кори среди обследованных лиц старше 28 лет.

Также на наличие IgG-антител к вирусу кори в 2016 г. были исследованы сыворотки крови 121 пациента госпиталя г. Киндия (Гвинейская Республика), находившихся на ста-

ционарном лечении с разными диагнозами. Из них с указанием возраста — 113 человек, с указанием пола — 100 человек. Женщины преобладали в выборке и составили 66%. Значимых различий по количеству чувствительных к заражению корью лиц среди мужчин и женщин не выявлено. В целом, из 121 обследованных, серонегативными к вирусу кори оказались 21 человек; у семерых пациентов результаты были сомнительными.

При анализе 113 сывороток крови, полученных от лиц с установленным возрастом (табл. 3), IgG-антитела к кори обнаружены в подавляющем большинстве образцов (78,8%).

В возрастной группе до 17 лет выявлен только один подросток, не имеющий IgG-антител к вирусу кори. У шестерых лиц этой возрастной группы преобладали невысокие значения титров IgG, а именно, в диапазоне 201,0–1000,0 IU/L. Вероятно, это поствакцинальные антитела. У двоих подростков регистрировали высокие титры антител (более 3000,0 IU/L), что свидетельствует о недавно перенесенной кори.

В возрастной группе 18–22 года выявлено 8 серонегативных к вирусу кори из 24 обследованных (33,3%); среди пациентов 23–40 лет обнаружено 22 серонегативных из 77 обследованных (26,4%). В целом, среди пациентов 18–40 лет доля серонегативных составила $28,5 \pm 5,1\%$, что достоверно выше ($p < 0,05$), чем среди лиц старше 41 года, где из 27 обследованных был выявлен лишь один серонегативный к вирусу кори человек ($3,7 \pm 3,6\%$).

Учитывая, что в Гвинейской Республике крупные вспышки кори были зафиксированы в 1981–1982 гг. и в 1996–2000 гг., когда заболеваемость достигала 15000,0–18000,0 на 100 тыс. населения [1], можно предположить, что выявленное в настоящем исследовании существенное преобладание серопозитивных к кори среди обследованных нами пациентов госпиталя г. Киндия в возрасте 23 лет и старше, связано с коревой инфекцией, которую данные лица перенесли в годы эпидемических вспышек в 80–90-е гг. прошлого столетия.

После интенсивного течения эпидемического процесса в последнее десятилетие XX в., начиная с 2002 г. в Гвинейской Республике в течение ряда лет регистрировали единичные случаи заболевания [1]. Так, показатель заболеваемости корью в 2012 г. составил 0,05 на 100 тыс. населения. Однако в 2015–2016 гг. отмечен новый подъем заболеваемости корью в Гвинейской Республике с возникновением эпидемических вспышек в отдельных провинциях. Например, в провинции Лола имела место вспышка кори в период с 23 января по 4 апреля 2015 г. Всего было зарегистрировано 284 случая, при этом

Таблица 1. Определение IgG-антител к вирусу кори у практически здоровых гвинейцев в динамике (2015 и 2016 гг.)

Table 1. Comparative results of the specific anti-measles virus IgG-antibodies study for clinically healthy guineans, 2015 and 2016

| № п/п No. of case | Титр IgG, IU/L IgG titer, IU/L | | Снижение (↓) количества IgG-АТ Decline (↓) of IgG-titer |
|----------------------|-----------------------------------|-----------|---|
| | 2015 г. | 2016 г. | |
| 1 | 380,0 | 380,0 | – |
| 2 | 125,0 | 147,0 | – |
| 3 | 1630,0 | 1360,0 | – |
| 4 | 2790,0 | 2380,0 | ↓ |
| 5 | 3500,0 | 2500,0 | ↓ |
| 6 | 2100,0 | 2100,0 | – |
| 7 | ≥ 5000,0 | ≥ 5000,0 | – |
| 8 | ≥ 5000,0 | ≥ 5000,0 | – |
| 9 | 3000,0 | 2090,0 | ↓ |
| 10 | 750,0 | 790,0 | – |
| 11 | ≥ 5000,0 | 4860,0 | – |
| 12 | ≥ 5000,0 | 3790,0 | ↓ |
| 13 | 940,0 | 940,0 | – |
| 14 | отр./neg. | отр./neg. | – |
| 15 | 1410,0 | 1620,0 | – |
| 16 | 4000,0 | 3500,0 | ↓ |
| 17 | 4090,0 | 2940,0 | ↓ |

Примечание. Количественное определение IgG-антител (в IU/L): < 200 IU/L — отрицательный результат; ≥ 200 < 275 IU/L — сомнительный результат; ≥ 275 IU/L — положительный результат.
Note. Quantitative evaluation of IgG-antibodies (IU/L): < 200 IU/L — negative result; ≥ 200 < 275 IU/L — equivocal result; ≥ 275 IU/L — positive result.

Таблица 2. Определение уровня IgG-корь-антител и их avidности у практически здоровых лиц (2016 г.)

Table 2. Anti-measles virus IgG-antibodies titers and avidity values for clinically healthy guineans, 2016

| № сыворотки No. of serum | IgG, IU/L | IgG-авидность* IgG-avidity* |
|-----------------------------|-----------|--------------------------------|
| 1 | 380,0 | 56,0 |
| 2 | 1417,0 | 79,5 |
| 3 | 1440,0 | 80,4 |
| 4 | 3750,0 | 100,0 |
| 5 | 1360,0 | 79,5 |
| 6 | 2380,0 | 77,1 |
| 7 | 440,0 | 68,0 |
| 8 | 2750,0 | 69,3 |
| 9 | 1750,0 | 83,5 |
| 10 | 2500,0 | 85,8 |
| 11 | 2180,0 | 84,3 |
| 12 | ≥ 5000,0 | 97,5 |
| 13 | ≥ 5000,0 | 100,0 |
| 14 | 2090,0 | 87,3 |
| 15 | 790,0 | 80,5 |
| 16 | 4850,0 | 91,9 |
| 17 | 3790,0 | 88,6 |
| 18 | 940,0 | 86,5 |
| 19 | 4120,0 | 93,7 |
| 20 | 880,0 | 77,4 |
| 21 | 320,0 | 70,9 |
| 22 | 1620,0 | 78,7 |
| 23 | 3500,0 | 95,3 |
| 24** | 2940,0 | 88,1 |

Примечание. *Авидность (%): < 40% — низкая avidность, ≥ 40–60% — серая зона; ≥ 60% — высокая avidность. **Приведены данные исследования 24 сывороток; в сыворотке крови одного обследованного IgG-корь-антитела не выявлены.
Note. *Avidity (%): < 40% — low avidity; ≥ 40–60% — “grey zone”; ≥ 60% — high avidity. **Data from the study of 24 sera are presented. In one blood serum IgG-measles-antibodies are not revealed.

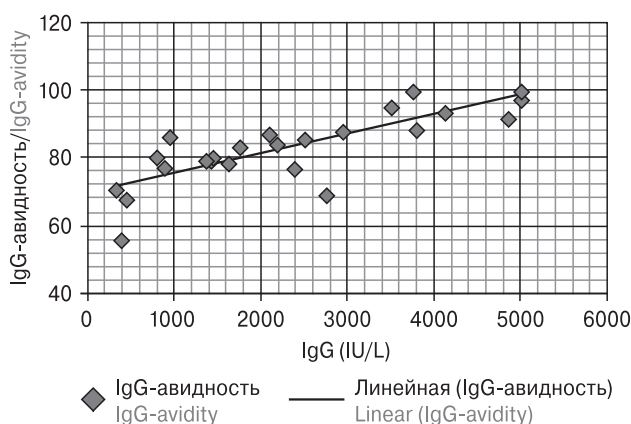


Рисунок. Зависимость содержания противокоревых IgG-антител и их avidности

Figure. Anti-measles virus IgG-antibodies titers vs avidity of IgG-antibodies

Таблица 3. Титры IgG-антител к вирусу кори у лиц разного возраста

Table 3. Anti-measles virus IgG-antibodies titers in different age groups

| Титры IgG-антител, IU/L IgG-antibodies titers, IU/L | Возраст, лет/Age, years | | | | Всего/Total | |
|---|-------------------------|-------|-------|------|---------------|-------|
| | < 17 | 18–22 | 23–40 | ≥ 41 | абс./ abs. | % |
| < 200,0 | 1 | 8 | 14 | 1 | 24 | 21,2 |
| 201,0–1000,0 | 6 | 10 | 29 | 16 | 61 | 78,8 |
| 1001,0–3000,0 | – | 2 | 8 | 6 | 16 | |
| ≥ 3000,0 | 2 | 4 | 2 | 4 | 12 | |
| Всего/Total | 9 | 24 | 53 | 27 | 113 | 100,0 |

в 92,6% случаев заболели дети в возрасте до 5 лет, в 6% случаев — дети 6–15 лет, доля заболевших старше 15 лет составила 1,4%. Подавляющее большинство заболевших (95%) — не вакцинированные против кори лица. Летальных случаев не было [12].

По результатам нашего исследования можно предположить, что 12 из 113 обследованных человек, имевших титры IgG-корь выше 3000 IU/L, перенесли корь в последнее время.

Заключение

Благодаря реализации стратегического плана по глобальному снижению заболеваемости корью и смертности от этой инфекции, разработанного ВОЗ в 1989 г. в рамках Расширенной программы иммунизации (РПИ), к 2010 г. было предотвращено более 4,5 млн летальных случаев от кори, а число зарегистрированных случаев инфекции в мире сократилось на 65%. В 2002 г. ВОЗ сертифицировала Американский регион как свободный от эндемичной кори. В то же время, программа элиминации кори в Европейском регионе [2] пролонгирована до 2020 г. в связи с имевшими место вспышками кори в ряде Европейских стран в 2012–2014 гг.

Изучение напряженности иммунитета к вирусу кори в Гвинейской Республике показало, что среди лабораторно обследованных детей и взрослых, IgG-антитела к вирусу кори обнаружены в большинстве случаев. Вместе с тем, в каждой возрастной группе выявлены серонегативные лица, а также лица с низким уровнем противокоревых антител.

Среди пациентов 18–40 лет доля серонегативных составила 28,5±5,1 от числа обследованных.

Эта когорта восприимчива к заражению вирусом кори и может способствовать поддержанию и активизации эпидемического процесса при возникновении вспышек коревой инфекции в Гвинейской Республике.

Список литературы/References

1. Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербакова С.А., Буаро М.Й., Тотолан А.А. Изучение уровня иммунитета к вирусу кори в отдельных группах населения гвинейской республики в рамках глобальной программы элиминации кори. Сообщение I // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 4. С. 353–358. [Popova A.Yu., Bichurina M.A., Lavrentyeva I.N., Zheleznova N.V., Antipova A.Yu., Shcherbakova S.A., Boiro M.Y., Totolian A.A. Measles virus immunity level study in particular population groups of the Republic of Guinea within the framework of global measles elimination program. Report 1. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2016, vol. 6, no. 4, pp. 353–358. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-353-358 (In Russ.)]
2. Элиминация кори и краснухи и предупреждение врожденной краснушной инфекции. Стратегический план Европейского региона ВОЗ 2005–2010 гг. ВОЗ, 2005. 31 с. [Eliminatsiya kori i krasnukhi i preduprezhdenie vrozhdennoi krasnushnoi infektsii. Strategicheskii plan Evropeiskogo regiona VOZ 2005–2010 gg. WHO, 2005. 31 p.]
3. Batzing-Feigenbaum J., Pruckner U., Beyer A., Sinn G., Dinter A., Mankertz A., Siedler A., Schubert A., Suckau M. Spotlight on measles 2010: preliminary report of an ongoing measles outbreak in a subpopulation with low vaccination coverage in Berlin, Germany, January–March 2010. *Euro Surveill.*, 2010, vol. 15, iss. 13: 19527.
4. CDC. Measles outbreak. Hennepin County, Minnesota. *MMWR Weekly*. 2011, vol. 60, no. 13, p. 421.
5. Eaton L. Measles cases in England and Wales rise sharply in 2008. *BMJ*, 2009, vol. 338, p. b533. doi: 10.1136/bmj.b533
6. Getahun M., Beyene B., Ademe A., Teshome B., Tefera M., Asha A., Afework A., Hailemariam Y., Assefa E., Gallagher K. Epidemiology of laboratory confirmed measles virus cases in Amhara Regional State of Ethiopia, 2004–2014. *BMC Infect. Dis.*, 2016, vol. 16, p. 133. doi: 10.1186/s12879-016-1457-7
7. Kasper S., Holzmann H., Aberle S.W., Wassermann-Neuhold M., Gshiel H., Finstra O., Allerberger F., Schmid D. Measles outbreak in Styria, Austria, March–May 2009. *Euro Surveill.*, 2009, vol. 14, iss. 40: 19347.
8. Kutty P., Rota J., Bellini W., Redd S.B., Barskey A., Wallace G. CDC. Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. May 20, 2011. URL: <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt07-measles.html> (20.02.2017)
9. Parent du Chatelet I., Floret D., Antona D., Levy-Bruhl D. Measles resurgence in France in 2008, a preliminary report. *Euro Surveill.*, 2009, vol. 14, iss. 6: 19118.
10. Ratnam S., Tipples G., Head C., Fauvel H., Fearon M., Ward B.J., Performance of indirect immunoglobulin M (IgM) serology tests and IgM capture assays for laboratory diagnosis of measles. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, vol. 38, no. 1, pp. 99–104.
11. Sugerman D.E., Barskey A.E., Delea M.G., Ortega-Sanchez I.R., Bi D., Ralston K.G., Rota P.A., Waters-Montijo K., Le Baron C.W. Measles outbreak in a highly vaccinated population, San Diego, 2008: role internationally undervaccinated. *Pediatrics*, 2010, vol. 125, pp. 747–755. doi: 10.1542/peds.2009-1653
12. Suk J.E., Jimenez A.P., Kourouma M., Derrough T., Balde M., Honomou P., Kolie N., Mamadi O., Tamba K., Lamah K., Loua A., Mollet T., Lamah M., Camara A., Prikazsky V. Post-Ebola measles outbreak in Lola, Guinea, January–June 2015. *Emerg. Infect. Dis.*, 2016, vol. 22, no. 6, pp. 1106–1108. doi: 10.3201/eid2206.151652
13. WHO vaccine-preventable diseases: monitoring system. 2016 global summary. URL: http://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/countries?countrycriteria%5Bcountry%5D%5B%5D=GIN&commit=OK (20.02.2017)

Авторы:

Попова А.Ю., д.м.н., профессор, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), Москва, Россия;

Бичурина М.А., д.м.н., зав. вирусологической лабораторией Центра по элиминации кори и краснухи ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Лаврентьева И.Н., д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Железнова Н.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Антипова А.Ю., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Щербакова С.А., д.б.н., зам. директора по научной и экспериментальной работе, ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Буаро М.Й., профессор, директор НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;

Тотолан Арег А., академик РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Popova A.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief State Sanitary Physician of the Russian Federation, Head of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), Moscow, Russian Federation;

Bichurina M.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Virology Laboratory by Elimination Measles and Rubella, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Lavrentyeva I.N., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Zheleznova N.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Viral Hepatitis, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Antipova A.Yu., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Shcherbakova S.A., PhD, MD (Biology), Deputy Director for Scientific and Experimental Work, Federal State Institute of Healthcare, Russian Scientific and Research Antiplague Institute «Mikrob», Saratov, Russian Federation;

Boiro M.Y., Professor, General Director, Institute of Applied Biology in Guinea, Kindia, Republic of Guinea;

Totolian Areg A., RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, Director of St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

ИЗМЕНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ К ИНТЕРФЕРОНУ- α 2 *IN VITRO* У ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ

Л.М. Куртасова¹, Н.А. Шакина², Л.А. Иккес¹

¹ ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия

² КГАУЗ Красноярский краевой центр профилактики и борьбы со СПИД, г. Красноярск, Россия

Резюме. Цель исследования — изучение клеточной чувствительности лейкоцитов периферической крови к интерферону- α 2 *in vitro* у детей в острый период, через 1 и 6 месяцев после перенесенного инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ). Обследовано 47 детей в возрасте 4–6 лет со среднетяжелой формой в острый период инфекционного мононуклеоза, вызванного ВЭБ, и через 1 ($n = 17$) и 6 месяцев ($n = 11$) после перенесенного заболевания. Контрольную группу составили 36 практически здоровых детей. Клеточную чувствительность к интерферону- α 2 *in vitro* определяли способом Л.М. Куртасовой с соавт. (2007). Хемилюминесценцию лейкоцитов крови изучали методом De Sole et al. (1983). У детей с ВЭБ-инфекцией установлено изменение чувствительности лейкоцитов крови к интерферону- α 2 *in vitro* в динамике заболевания. Выявлено расширение диапазона клеточной чувствительности к интерферону- α 2 у наблюдаемых детей через 6 месяцев после перенесенного заболевания. Обнаружена зависимость чувствительности лейкоцитов периферической крови к интерферону- α 2 *in vitro* от дозы препарата и периода заболевания.

Ключевые слова: клеточная чувствительность, лейкоциты, интерферон, вирус Эпштейна–Барр.

THE PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES SUSCEPTIBILITY TO INTERFERON- α 2 *IN VITRO* CHANGE AMONGST CHILDREN WITH INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

Kurtasova L.M.^a, Shakina N.A.^b, Ikkes L.A.^a

^a Krasnoyarsk State Medical University named after professor V.F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Krasnoyarsk Regional Center for Prevention and Control of AIDS, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. Objective: to measure cell susceptibility of peripheral blood leukocytes to interferon- α 2 *in vitro* at children during the acute period in 1 and 6 months after infectious mononucleosis caused by the Epstein–Barr virus. 47 children aged 4–6 years with moderately severe form of the disease in the acute period of infectious mononucleosis caused by the Epstein–Barr virus (EBV) were examined, as well as in 1 month ($n = 17$) and 6 months ($n = 11$) after the disease. The focus group consisted of 36 nearly healthy children. The cell susceptibility to interferon- α 2 *in vitro* was determined by the method of Kurtasova L.M. et al. (2007). Chemiluminescence of blood leukocytes was studied by De Sole et al. (1983).

Адрес для переписки:

Куртасова Людмила Михайловна
660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1,
ФГБОУ ВО КГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.
Тел.: 8 (391) 220-06-28.
E-mail: sibmed-obozrenie@yandex.ru

Contacts:

Lyudmila M. Kurtasova
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk,
Partizana Zheleznyaka str., 1, Krasnoyarsk State Medical University
named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky.
Phone: +7 (391) 220-06-28.
E-mail: sibmed-obozrenie@yandex.ru

Библиографическое описание:

Куртасова Л.М., Шакина Н.А., Иккес Л.А. Изменение чувствительности лейкоцитов периферической крови к интерферону- α 2 *in vitro* у детей с инфекционным мононуклеозом // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 85–90. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-85-90

Citation:

Kurtasova L.M., Shakina N.A., Ikkes L.A. The peripheral blood leukocytes susceptibility to interferon- α 2 *in vitro* change amongst children with infectious mononucleosis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1, pp. . doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-85-90

The susceptibility change of peripheral blood leukocytes to interferon- $\alpha 2$ *in vitro* at children with infectious mononucleosis caused by Epstein–Barr virus in dynamics of the disease has been revealed. The expansion of the range of cell susceptibility to interferon- $\alpha 2$ in 6 months after the disease has been enclosed. The dependence of the susceptibility of peripheral blood leukocytes to interferon- $\alpha 2$ *in vitro* on the dose and the period of the disease has been fixed.

Key words: cell susceptibility, white blood cells, interferon, Epstein–Barr virus.

Введение

Инфекционный мононуклеоз (ИМ) является одной из наиболее частых клинических форм заболеваний, вызываемых вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) у детей. Необходимо отметить, что в течение последнего десятилетия в РФ отмечается рост ВЭБ-инфекции, особенно среди детей [1, 4, 5, 8].

При этом вопросы терапии ИМ, вызванного ВЭБ, до настоящего времени остаются до конца не решенными, что обусловлено, в первую очередь, отсутствием средств специфической терапии. Однако использование интерферонов (IFN) в клинической практике открыло новую эру в терапии вирусных инфекций у детей.

Интерфероны являются цитокинами с широким спектром действия. Среди биологических эффектов IFN отмечены модуляция иммунного ответа и воспаления, регуляция клеточной пролиферации и дифференцировки. Наиболее выражено действие IFN в фазу раннего иммунного ответа; они усиливают экспрессию антигенов и рецепторов на клетках-эффекторах, регулируют экспрессию генов, влияют на продолжительность фаз клеточного цикла. Кроме того, IFN влияют на продукцию и секрецию внутриклеточных белков и активность ферментных систем, в частности запускают энзиматические реакции окисления с образованием активных форм кислорода (АФК) [2, 3].

Целесообразность применения IFN при ИМ, вызванном ВЭБ, не подлежит сомнению. Однако большинство исследователей признают, что назначение препаратов интерферонового ряда должно быть оправданным. Тем не менее, до настоящего времени не разработан дифференцированный подход к иммунотерапии ИМ, вызванного ВЭБ, у детей с учетом иммунных нарушений, варианта течения заболевания, индивидуальной чувствительности пациента к иммуноотропным препаратам, в частности к IFN.

В связи с вышеизложенным, целью исследования явилось изучение клеточной чувствительности лейкоцитов периферической крови к IFN $\alpha 2$ *in vitro* у детей в острый период и через 1, 6 месяцев после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ.

Материалы и методы

Проведено открытое клиническое проспективное исследование. Под наблюдением находились 47 пациентов с ИМ, вызванным ВЭБ, в возрасте 4–6 лет со среднетяжелой формой заболевания в острую фазу (2–5-й день болезни), через

один месяц (17 человек) и 6 месяцев (11 человек) после перенесенного заболевания. Исследование проводилось на базе инфекционного стационара КГБУЗ «Красноярская межрайонная детская клиническая больница № 1» и КГАУЗ «Краевой центр профилактики и борьбы со СПИД». Контрольную группу составили 36 практически здоровых детей аналогичного возрастного диапазона.

Диагноз ИМ, вызванного ВЭБ, верифицировали методом ПЦР с применением набора реагентов для выделения ДНК ВЭБ в лимфоцитах крови фирмы «ДНК-технология» (Москва) и методом ИФА с использованием тест-систем фирмы «Human» (Германия) определяли IgM VCA, IgG EA-Д, IgG EBNA-1 в сыворотке крови. Все пациенты в острую фазу заболевания имели положительный результат на ДНК ВЭБ в лимфоцитах крови и серологические маркеры острой ВЭБ-инфекции [ВЭБ-VCA IgM (+), ВЭБ-EA-Д IgG (+)].

Клеточную чувствительность к реферону (препарату IFN $\alpha 2$) *in vitro* определяли способом Л.М. Куртасовой с соавт. [6], исследуя хемилуминесцентный ответ (ХЛ) лейкоцитов крови без воздействия реферона и при наличии разных доз препарата в реакционной среде. ХЛ-анализ проводили по методу De Sole et al. [7].

Оценку люминолзависимой ХЛ лейкоцитов крови проводили на хемилуминесцентном анализаторе «СЛ 3604» (Россия) в течение 90 мин. Определяли следующие показатели: время выхода на максимум (T_{max}), максимальное значение (I_{max}) и площадь (S) под хемилуминесцентной кривой. В качестве индуктора «дыхательного взрыва» использовали опсонизированный зимозан в концентрации 2 мг/мл (Sigma, США). Усиление ХЛ, индуцированной зимозаном, относительно спонтанной ХЛ, оценивали соотношением $S_{зим.}/S_{спон.}$ и определяли как индекс активности (ИА).

Концентрацию реферона в пробах рассчитывали исходя из среднего количества лейкоцитов в периферической крови ребенка 4–6 лет, количество клеток в пробе и лечебных доз реферона. Дозы реферона для расчетов составили 500 тыс., 1 млн и 1,5 млн МЕ.

Опытная проба № 1 содержала 200 мкл лейкоцитарной взвеси, 20 мкл донорской сыворотки, 230 мкл раствора Хенкса, 10 мкл реферона и 50 мкл люминола.

Опытная проба № 2 содержала 200 мкл лейкоцитарной взвеси, 20 мкл донорской сыворотки, 220 мкл раствора Хенкса, 20 мкл реферона и 50 мкл люминола.

Опытная проба № 3 содержала 200 мкл лейкоцитарной взвеси, 20 мкл донорской сыворотки, 210 мкл раствора Хенкса, 30 мкл реаферона и 50 мкл люминола.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica v. 6.0 (StatSoft, Inc., США). Описание количественных признаков выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (P_{25} и P_{75}). Статистическую значимость различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому U-критерию Манна–Уитни. Статистическую значимость различий между показателями зависимых выборок оценивали по непараметрическому T-критерию Вилкоксона. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показателей хемилюминесценции лейкоцитов крови в группе детей с ИМ, вызванным ВЭБ, в острый период заболевания в ответ на воздействие разных доз реаферона *in vitro* представлены в таблице 1.

Из приведенных данных следует, что реаферон *in vitro* в дозах 1,0 млн и 1,5 млн МЕ не изменяет исследуемые нами параметры хемилюминесценции лейкоцитов крови у больных ИМ, вызванным ВЭБ, в острый период заболевания.

В то же время воздействие реаферона *in vitro* в дозе 0,5 млн МЕ выражается в тенденции к понижению интенсивности свечения спонтанной хемилюминесценции и увеличению индекса активации относительно контрольного уровня (без присутствия реаферона в реакционной среде).

Следовательно, у больных ИМ, вызванным ВЭБ, в острый период заболевания наблюдается уменьшение диапазона клеточной чувствительности лейкоцитов крови к реаферону *in vitro* по сравнению с группой здоровых детей (табл. 2). Возможно, обнаруженные изменения могут быть связаны со снижением на поверхности лейкоцитов крови у больных ИМ, вызванным ВЭБ, в острый период заболевания достаточного количества специфических рецепторов к реаферону или нарушению сигнал-передающего аппарата клетки, вероятно, обусловленными цитопатическим действием вируса.

Изучение показателей хемилюминесценции лейкоцитов крови у наблюдаемых детей через 1 мес. после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ, показало, что в данный период наблюдения лейкоциты реагируют изменением ХЛ-ответа только на присутствие в реакционной среде реаферона в минимальном из исследуемого нами количества — 10 мкл, что соответствует лечебной дозе 0,5 млн МЕ. Под действием реаферона статистически значимо увеличивается время выхода на максимум спонтанной ХЛ-кривой относительно показателей контроля (табл. 3).

Таблица 1. Показатели хемилюминесценции лейкоцитов крови при воздействии $IFN\alpha 2$ *in vitro* у больных в острый период инфекционного мононуклеоза (Me; P_{25} – P_{75})

Table 1. Indicators of chemiluminescence of blood leukocytes under the influence of $IFN\alpha 2$ *in vitro* in patients in acute phase of infectious mononucleosis (Me; P_{25} – P_{75})

| Показатели Indicators | Контроль/Control (n = 17) | 0,5 млн МЕ/0,5 million UI (n = 17) | 1,0 млн МЕ/1,0 million UI (n = 17) | 1,5 млн МЕ/1,5 million UI (n = 17) |
|--|------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Спонтанная хемилюминесценция/Spontaneous chemiluminescence | | | | |
| T_{max} (c/sec) | 469,00 194,00–1025,00 | 365,00 199,00–1296,00 | 486,00 196,00–1500,00 | 432,00 432,00–1637,00 |
| I_{max} (o.e.* $\times 10^3$) | 3,56 2,16–7,95 | 3,12 1,59–6,63 0,1 > P1 > 0,05 | 3,49 1,56–6,99 | 3,92 1,70–7,68 |
| S_1 (o.e. $\times 10^5$) | 1,57 0,65–3,05 | 1,33 0,55–3,65 | 1,46 0,78–3,10 | 1,53 0,55–3,33 |
| Индукцированная зимозаном хемилюминесценция/Zymosan induced chemiluminescence | | | | |
| T_{max} (c/sec) | 1539,00 1189,00–2235,00 | 1632,00 1248,00–2369,00 | 1632,00 1264,00–1956,00 | 1683,00 1225,00–2253,00 |
| I_{max} (o.e. $\times 10^3$) | 22,36 5,92–41,80 | 19,63 7,42–42,93 | 18,54 7,11–42,69 | 16,64 7,94–45,06 |
| S_2 (o.e. $\times 10^5$) | 7,08 1,90–16,60 | 6,06 2,52–17,10 | 5,74 2,08–16,90 | 6,38 2,04–18,60 |
| Индекс активации/Activation index | | | | |
| S_2/S_1 | 4,18 2,07–6,90 | 5,63 2,00–9,41 0,1 > P1 > 0,05 | 5,77 1,99–10,68 | 4,50 2,26–8,26 |

Примечание. * Оптические единицы.

Notes. * Optical units.

Таблица 2. Показатели хемилюминесценции лейкоцитов крови при воздействии $IFN\alpha 2$ *in vitro* у здоровых детей (Ме; P_{25} – P_{75})Table 2. Indicators of chemiluminescence of blood leukocytes under the influence of interferon- $\alpha 2$ *in vitro* in healthy children (Ме; P_{25} – P_{75})

| Показатели Indicators | Контроль/Control (n = 36) | 0,5 млн МЕ/0,5 million UI (n = 36) | 1,0 млн МЕ/1,0 million UI (n = 36) | 1,5 млн МЕ/1,5 million UI (n = 36) |
|--|------------------------------|---------------------------------------|--|---|
| Спонтанная хемилюминесценция/Spontaneous chemiluminescence | | | | |
| T_{max} (с/сек) | 973,50 343,5–1777 | 973,00 325,5–1666 | 841,50 253,5–1519,5 0,1 > $P_{1,2}$ > 0,05 | 845,00 518,0–1650 |
| I_{max} (о.е. * 10^3) | 6,44 2,87–9,67 | 4,96 2,98–8,51 | 4,70 2,14–8,30 | 3,44 2,41–11,28 0,1 > P_1 > 0,05 |
| S_1 (о.е. * 10^5) | 1,40 0,78–3,05 | 1,16 0,61–2,60 | 1,08 0,61–2,66 | 0,98 0,64–3,08 0,1 > P_1 > 0,05 |
| Индукцированная зимозаном хемилюминесценция/Zymosan induced chemiluminescence | | | | |
| T_{max} (с/сек) | 1403,00 1030,5–1815 | 1459,00 1288,5–1962,5 | 1404,00 1060–2133 | 1379,50 1186–1955,5 |
| I_{max} (о.е. * 10^3) | 18,07 11,76–24,21 | 16,64 10,24–25,76 | 15,64 8,25–31,52 | 15,69 9,80–23,19 0,1 > P_1 > 0,05 |
| S_2 (о.е. * 10^5) | 3,34 2,53–5,58 | 3,31 1,85–6,35 | 3,11 1,74–7,84 | 3,11 1,78–5,30 $P_1 < 0,05$ |
| Индекс активации/Activation index | | | | |
| S_2/S_1 | 2,22 1,18–5,29 | 2,94 1,18–5,29 | 2,46 1,32–7,99 | 2,73 1,53–6,19 |

Примечание. * Оптические единицы.

Notes. * Optical units.

Анализ параметров ХЛ-ответа лейкоцитов крови у наблюдаемых детей через 6 месяцев после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ, позволил установить изменение показателей хемилюминесценции на все исследуемые нами дозы реферона (0,5 млн, 1,0 млн, 1,5 млн МЕ).

Так, под влиянием реферона в дозе 0,5 млн МЕ, отмечается статистически значимое увеличение максимальной интенсивности свечения спонтанной хемилюминесценции по сравнению с контрольным диапазоном. Реакция зимозан-индуцированной хемилюминесценции лейкоцитов крови характеризовалась выраженной тенденцией к сокращению времени реагирования на стимул, относительно показателей контроля (табл. 3).

Доза реферона 1 млн МЕ через 6 месяцев после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ, определяет тенденцию к понижению интенсивности «дыхательной вспышки» в спонтанном и нагрузочном тестах, а также выраженную тенденцию к увеличению площади спонтанной ХЛ лейкоцитов крови по сравнению с соответствующими параметрами контроля (табл. 3).

Воздействие реферона *in vitro* в дозе 1,5 млн МЕ на лейкоциты крови наблюдаемых детей через 6 месяцев после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ, приводит к выраженной тенденции

снижения максимальной интенсивности свечения спонтанной ХЛ, относительно контрольного уровня (табл. 3).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что как в острый период заболевания, так и через 1 месяц после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ, лейкоциты крови у наблюдаемых детей реагируют на воздействие реферона *in vitro* только в дозе 500 тыс. МЕ.

В то же время, если лейкоциты крови у больных в острый период заболевания отвечают на присутствие реферона в реакционной среде изменением показателей, характеризующих интенсивность спонтанного ХЛ-ответа и индекса активации, то через 1 месяц после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ, изменением кинетики спонтанного ХЛ-ответа.

Через 6 месяцев после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ, у наблюдаемых детей расширяется диапазон клеточной чувствительности лейкоцитов крови к реферону *in vitro*. Необходимо отметить, что в данный период наблюдения у детей, перенесших ИМ, вызванный ВЭБ, лейкоциты крови как и у здоровых детей реагируют на воздействие реферона *in vitro* в дозах 1,0 млн и 1,5 млн МЕ, сохраняя при этом чувствительность к дозе 500 тыс. МЕ.

При этом у наблюдаемых детей через 6 месяцев после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ, лейкоциты крови реагируют на присутствие реаферона (1,0 млн МЕ) в реакционной среде изменением уровня интенсивности «дыхательной вспышки», а в группе здоровых детей менялась кинетика ХЛ-ответа. В группе здоровых детей доза 1,5 млн МЕ реаферона

вызывала изменение интенсивности свечения и площади как спонтанной, так и индуцированной хемилюминесценции лейкоцитов крови. У детей с перенесенным ИМ, вызванным ВЭБ, влияние реаферона *in vitro* выражалось в изменении только максимального уровня спонтанного ХЛ-ответа лейкоцитов периферической крови.

Таблица 3. Показатели хемилюминесценции лейкоцитов крови при воздействии IFN α 2 *in vitro* через 1 и 6 месяцев после перенесенного инфекционного мононуклеоза (Ме; P₂₅–P₇₅)

Table 3. Indicators of chemiluminescence of blood leukocytes under the influence of interferon- α 2 *in vitro* at 1 and 6 months after infectious mononucleosis

| Через 1 месяц/After 1 month (n = 17) | | | | |
|--|------------------------------|---|--|---|
| Показатели Indicators | Контроль/Control (n = 17) | 0,5 млн МЕ/0,5 million UI (n = 17) | 1,0 млн МЕ/1,0 million UI (n = 17) | 1,5 млн МЕ/1,5 million UI (n = 17) |
| Спонтанная хемилюминесценция/Spontaneous chemiluminescence | | | | |
| T _{max} (c/sec) | 497,00 184,00–1970,00 | 712,00 276,00–2071,00 P ₁ < 0,05 | 454,00 267,00–1804,00 | 400,00 245,00–1118,00 |
| I _{max} (о.е. * × 10 ³) | 4,20 2,42–8,07 | 3,87 2,29–6,19 | 4,08 3,11–11,13 | 5,26 3,20–8,56 |
| S ₁ (о.е. × 10 ⁵) | 2,20 0,66–3,09 | 1,28 0,92–3,41 | 1,96 1,23–3,64 | 2,14 1,36–4,04 |
| Индукцированная зимозаном хемилюминесценция/Zymosan induced chemiluminescence | | | | |
| T _{max} (c/sec) | 1563,00 1117,00–1723,00 | 1626,00 1283,00–1987,00 | 1717,00 1594,00–1906,00 | 1627,00 1072,00–1927,00 |
| I _{max} (о.е. × 10 ³) | 8,12 5,67–27,63 | 8,34 4,57–31,45 | 9,30 6,27–31,22 | 10,11 4,27–32,09 |
| S ₂ (о.е. × 10 ⁵) | 3,60 2,22–8,26 | 2,71 2,43–9,59 | 3,41 2,46–10,90 | 4,14 2,17–11,30 |
| Индекс активации/Activation index | | | | |
| S ₂ /S ₁ | 1,91 1,47–7,50 | 2,64 2,07–3,95 | 2,19 1,64–3,65 | 1,72 1,46–6,78 |
| Через 6 месяцев/After 6 months (n = 11) | | | | |
| Показатели Indicators | Контроль/Control (n = 11) | 0,5 млн МЕ/0,5 million UI (n = 11) | 1,0 млн МЕ/1,0 million UI (n = 11) | 1,5 млн МЕ/1,5 million UI (n = 11) |
| Спонтанная хемилюминесценция/Spontaneous chemiluminescence | | | | |
| T _{max} (c/sec) | 259,00 147,00–615,00 | 259,00 141,00–488,00 | 259,00 142,00–491,00 | 284,00 258,00–483,00 |
| I _{max} (о.е. × 10 ³) | 8,55 1,44–15,16 | 10,43 4,92–17,69 P ₁ < 0,05 | 6,43 4,04–15,32 0,1 > P ₁ > 0,05 | 5,64 2,89–12,46 0,1 > P ₁ > 0,05 |
| S ₁ (о.е. × 10 ⁵) | 1,43 0,35–2,38 | 1,40 1,05–4,32 | 1,50 0,97–4,32 0,1 > P ₁ > 0,05 | 1,29 0,62–2,17 |
| Индукцированная зимозаном хемилюминесценция/Zymosan induced chemiluminescence | | | | |
| T _{max} (c/sec) | 1764,00 1046,00–2291,00 | 1338,00 1046,00–1764,00 0,1 > P ₁ > 0,05 | 1464,00 1045,00–2483,00 | 1949,00 1147,00–2458,00 |
| I _{max} (о.е. × 10 ³) | 12,88 3,98–23,08 | 15,56 5,17–21,79 | 14,69 6,84–29,51 0,1 > P ₁ > 0,05 | 11,63 10,22–17,31 |
| S ₂ (о.е. × 10 ⁵) | 2,98 0,99–5,43 | 3,18 1,29–5,79 | 3,09 1,74–5,61 | 3,00 1,97–4,25 |
| Индекс активации/Activation index | | | | |
| S ₂ /S ₁ | 2,13 1,25–2,87 | 2,43 0,98–3,69 | 1,63 1,09–3,19 | 1,41 0,90–5,10 |

Примечание. * Оптические единицы.

Notes. * Optical units.

Заключение

Результаты проведенного исследования установили изменения клеточной чувствительности лейкоцитов периферической крови к реферону *in vitro* у детей с ИМ, вызванным ВЭБ, в динамике заболевания. При этом выявлено, что диапазон клеточной чувствительности лейкоцитов крови к реферону расширяется у наблюдаемых детей через 6 месяцев после перенесенного забо-

левания. В данный период исследования лейкоциты крови у наблюдаемых пациентов отвечают на введение экзогенного интерферона- $\alpha 2$ *in vitro* как и у здоровых детей в дозе 1,0 млн или 1,5 млн МЕ, сохраняя при этом чувствительность к препарату в дозе 0,5 млн МЕ. Характер изменений реагирования лейкоцитов периферической крови на введение *in vitro* экзогенного IFN $\alpha 2$ зависит от дозы вводимого препарата и периода заболевания.

Список литературы/References

1. Гончарова Е.В., Сенюта Н.Б., Смирнова К.В., Щербак Л.Н., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) в России: инфицированность населения и анализ вариантов гена LMP1у больных ВЭБ-ассоциированными патологиями и у здоровых лиц // Вопросы вирусологии. 2015. Т. 60, № 2. С. 11–17. [Goncharova E.V., Senyuta N.B., Smirnov K.V., Shcherbak L.N., Gurtsevich V.E. Epstein–Barr virus (EBV) in Russia, the infection of the population and the analysis of gene LMP1 variants at the patients with EBV-associated disease and at healthy patients. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2015, vol. 60, no. 2, pp. 11–17. (In Russ.)]
2. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2005. 368 с. [Ershov F.I., Kiselev O.I. Interferony i ikh induktory [Interferons and their inducers]. Moscow: GEOTAR-Media, 2005. 368 p.]
3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 550 с. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Tsitokiny [Cytokines]. SPb.: Foliant, 2008. 550 p.]
4. Куртасова Л.М., Ольховский И.А., Якунина Е.Ю., Голованова А.Е., Заблоская С.Г. Клиническое значение иммунологических маркеров ВЭБ-инфекции при инфекционном мононуклеозе у детей // Клиническая лабораторная диагностика. 2005. № 12. С. 44–46. [Kurtasova L.M., Olkhovskiy I.A., Yakunina E.Y., Golovanova A.E., Zablotskaya S.G. The clinical significance of immunological markers of EBV-infection with infectious mononucleosis at children. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics*, 2005, no. 12, pp. 44–46. (In Russ.)]
5. Львов Н.Д., Дудукина Е.А. Ключевые вопросы диагностики Эпштейна–Барр вирусной инфекции // Инфекционные болезни. Журнал для непрерывного медицинского образования врачей. 2013. № 3. С. 24–32. [Lvov N.D., Dudukina E.A. Key questions of the Epstein–Barr virus infection diagnostics. Infectious diseases. Infektsionnye bolezni. *Zhurnal dlya nepreryvnogo meditsinskogo obrazovaniya vrachei = The Journal of Continuing Medical Education for Physicians*, 2013, no. 3, pp. 24–32. (In Russ.)]
6. Патент 2293988 Российской Федерации, МПК G01N 33/50 (2006.01). Способ оценки чувствительности к интерферону у больных раком почки / Куртасова Л.М., Шкапова Е.А., Савченко А.А., Крыжановский А.И., Зуков Р.А., Рачкова Н.В.; заявитель и патентообладатель: ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН (RU), Красноярский краевой онкологический диспансер (RU). заявл. 11.01.05; опубл. 20.02.07, Бюл. № 5. 4 с. [Patent 2293988 of Russian Federation. IPC G01N 33/50 (2006.01). *Sposob otsenki chuvstvitel'nosti k interferonu u bol'nykh rakom pochki* [A method of evaluation of susceptibility to interferon at patients with clear cell carcinoma] / Kurtasova L.M., Shkapova E.A., Savchenko A.A., Krizhanovsky A.I., Zukow R.A., Rachkova N.V.; appl. and patent holder: Research Institute of Medical Problems of the North SB RAMS (RU), Krasnoyarsk Regional Oncology Center (RU); stat. 11.01.05; publ. 20.02.07, Bull. No. 5. 4 p.]
7. De Sole P., Lippa S., Lixxarru G. Whole blood chemiluminescence: a new technical approach to access oxygen-dependent microbial activity of granulocytes. *J. Clin. Lab. Autom.*, 1983, vol. 3, pp. 391–400.
8. Odumade O.A., Hogquist K.A., Balfour H.H. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein–Barr virus infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2011, vol. 24, pp. 193–209. doi: 10.1128/CMR.00044-10

Авторы:

Куртасова Л.М., д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия;

Шакина Н.А., к.м.н., зав. отделением иммунологических исследований КГАУЗ Красноярский краевой центр профилактики и борьбы со СПИД, г. Красноярск, Россия;

Иккес Л.А., ординатор кафедры детских инфекционных болезней с курсом ПО ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия.

Authors:

Kurtasova L.M., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Clinical Immunology, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation; **Shakina N.A.**, PhD (Medicine), Head of the Department of Immunological Studies, Krasnoyarsk Regional Center for Prevention and Control of AIDS, Krasnoyarsk, Russian Federation; **Ikkes L.A.**, Resident Physician, Department of Pediatric Infectious Diseases, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

ПЕРСПЕКТИВА ОЦЕНКИ АНТИГЕНРЕАКТИВНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ *IN VITRO* ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО БРУЦЕЛЛЕЗА

М.В. Костюченко¹, Д.Г. Пономаренко¹, Е.Л. Ракитина¹, О.В. Логвиненко¹,
И.В. Санникова², Д.А. Дейнека², О.Г. Голубь³

¹ ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

² ФГБОУ ВПО Ставропольский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ставрополь, Россия

³ ГБУЗ СК Городская клиническая больница г. Ставрополя, г. Ставрополь, Россия

Резюме. Бруцеллез остается одной из наиболее актуальных опасных инфекций в регионах с развитым животноводством. Исключительный полиморфизм симптомов, многообразие форм болезни, малая информативность результатов рутинного лабораторного общеклинического обследования нередко приводят к диагностическим ошибкам на догоспитальном этапе. Усовершенствование комплекса лабораторной диагностики бруцеллезной инфекции требует разработки современных дополнительных методов верификации, основанных на клеточных факторах иммунитета как ведущих в иммуногенезе и патогенезе бруцеллеза. Учитывая ведущую роль клеточного иммунитета в формировании защиты от большинства бактериальных особо опасных инфекций, изучение клеточной реакции в ответ на антигенную стимуляцию следует считать наиболее информативным (маркерным) и объективным при оценке иммунологической перестройки организма при болезни или вакцинации. Перспективными показателями специфической клеточной антигенреактивности могут выступать следующие маркеры (рецепторы) активации лимфоцитов: CD25 — высокоаффинный рецептор интерлейкина 2 (IL-2Ra), маркер ранней активации Т-лимфоцитов; HLA-DR — антиген главного комплекса гистосовместимости класса II, экспрессия маркера ассоциирована не только с поздней, но и с длительной активацией лимфоцитов; CD95 (Fas, APO-1) — рецептор индукции апоптоза («клеточной смерти»), маркер «поздней» активации (представлен преимущественно на CD4⁺ лимфоцитах) и Fas L (CD178) — рецептор индукции апоптоза, экспрессируется в основном на CD8⁺ клетках. Цель работы — оценить возможность и перспективность применения технологии проточной цитофлуориметрии и клеточных тестов *in vitro* для диагностики острого бруцеллеза. В исследовании участвовало 35 человек с диагнозом «острый бруцеллез» и 12 человек — не больные, не переболевшие бруцеллезом, не вакцинированные против бруцеллеза (контрольная группа). Материалом исследования послужила венозная кровь. Определяли количество лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CD25, HLA-DR, CD95, CD95L (CD178) при активации специфическим антигеном. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием приложений Microsoft Excel 2010. В ходе исследования установлено, что интенсивность антиген-стимулированной активации лимфоцитов *in vitro* можно использовать в качестве маркера острой бруцеллезной инфекции у человека. Наиболее перспективными показателями активации лимфоцитов *in vitro*, можно считать рецепторы к IL-2 (CD25)

Адрес для переписки:

Костюченко Марина Владимировна
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13–15,
ФКУЗ Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (906) 442-67-27 (моб.). Тел./факс: 8 (8652) 26-03-12.
E-mail: marina.costyucheno@yandex.ru

Contacts:

Marina V. Kostyuchenko
355035, Russian Federation, Stavropol, Sovetskaya str., 13–15,
Stavropol Plague Control Research Institute.
Phone: +7 (906) 442-67-27 (mobile). Phone/fax: 8 (8652) 469-79-20.
E-mail: marina.costyucheno@yandex.ru

Библиографическое описание:

Костюченко М.В., Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Санникова И.В., Дейнека Д.А., Голубь О.Г. Перспектива оценки антигенреактивности лимфоцитов *in vitro* для диагностики острого бруцеллеза // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 91–96.
doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-91-96

© Костюченко М.В. и соавт., 2017

Citation:

Kostyuchenko M.V., Ponomarenko D.G., Rakitina E.L., Logvinenko O.V., Sannikova I.V., Dejneka D.A., Golub O.G. Perspective of *in vitro* lymphocytes antigenicity evaluation for the diagnostics of acute brucellosis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 91–96. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-91-96

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2017-1-91-96>

и маркеры апоптоза — CD95, CD95L (CD178). Таким образом, проведенные исследования указывают на возможность и реальную перспективу использования технологии проточной цитофлуориметрии и клеточных тестов *in vitro* для диагностики острого бруцеллеза.

Ключевые слова: бруцеллез, проточная цитофлуориметрия, антигенреактивность лимфоцитов, диагностика острого бруцеллеза, тест антигенной стимуляции клеток, маркеры активации лимфоцитов.

PERSPECTIVE OF *IN VITRO* LYMPHOCYTES ANTIGENICITY EVALUATION FOR THE DIAGNOSTICS OF ACUTE BRUCELLOSIS

Kostyuchenko M.V.^a, Ponomarenko D.G.^a, Rakitina E.L.^a, Logvinenko O.V.^a, Sannikova I.V.^b, Dejneka D.A.^b, Golub O.G.^c

^a Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation

^b Stavropol State Medical University of Minzdrav of Russia, Stavropol, Russian Federation

^c City Clinical Hospital of Stavropol, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The brucellosis remains to one of the most urgent dangerous infections in regions with developed livestock production. An exclusive polymorphism of symptoms, variety of forms of a disease, small informational content of results of routine laboratory all-clinical inspection, quite often leads to diagnostic mistakes at a pre-hospital stage. Improvement of a complex of laboratory diagnosis of a brucellosis infection demands development of the modern padding methods of verification based on cell-like factors of immunity as leaders in an immunogenesis and a pathogenesis of a brucellosis. Considering the leading role of cell-like immunity in formation of protection against the majority of bacteriemic especially dangerous infections, studying of cell-like reaction in response to antigenic stimulation, it is necessary to consider the most informative (marker) and objective at assessment of immunologic reorganization of an organism at a disease or vaccination. The following markers (receptors) of activation of lymphocytes can act as perspective indexes of a specific cell-like antigenreactivity: CD25 — a high-affine receptor of interleukin 2 (IL-2Ra), a marker of early activation of T-lymphocytes; HLA-DR — an antigen of the main complex of a histocompatibility of a class II, an expression of a marker is associated not only with late, but also long-lived activation of lymphocytes; CD95 (Fas, APO-1) — a receptor of an induction of an apoptosis (“cell death”), a marker of “late” activation (CD4⁺ lymphocytes is presented mainly) and Fas L (CD178) — a receptor of an induction of an apoptosis, expresses generally on CD8⁺ cages. The work purpose — to estimate an opportunity and prospects of use of technology of a flowing cytofluorometry and the *in vitro* cell tests for diagnosis of a acute brucellosis. 35 people with the diagnosis “Acute brucellosis” and 12 people — not the patients who did not have a brucellosis, are not vaccinated against a brucellosis (control group) participated in a research. Blue blood served as material of a research. Defined quantity of the lymphocytes expressing receptors of CD25, HLA-DR, CD95, CD95L (CD178) at activation by a specific antigen. The received results processed statistically with use of Microsoft Excel 2010. During the research it is established that intensity an antigen-stimulated activation of lymphocytes of *in vitro*, it is possible to use as a marker of a acute brucellosis infection at the person. The most perspective indexes of activation of lymphocytes of *in vitro*, it is possible to consider receptors to IL-2 (CD25) and apoptosis markers — CD95, CD95L (CD178). Thus, the conducted researches indicate an opportunity and the actual prospect of use of technology of a flowing cytofluorometry and cell-like *in vitro* tests for diagnostics of a acute brucellosis.

Key words: brucellosis, flow cytometry, antigennegative lymphocytes, diagnostics of acute brucellosis, the test antigen stimulation of cells, markers of lymphocyte activation.

Бруцеллез остается одной из наиболее актуальных опасных инфекций в регионах с развитым животноводством [2]. Исключительный полиморфизм симптомов, многообразие форм болезни, малая информативность результатов рутинного общеклинического лабораторного обследования нередко приводит к диагностическим ошибкам на догоспитальном этапе [5]. Следует отметить ограниченные диагностические возможности традиционно используемых методов бактериологической, серологической диагностики и молекулярно-генетических исследований [3, 6, 7, 10].

Известно, что более чем в 70% случаев диагноз «бруцеллез» бактериологически не под-

тверждается, при этом доля таких случаев может существенно увеличиваться за счет больных, до начала обследования получавших антибактериальную терапию [3].

Диагностическая информативность (чувствительность, специфичность) серологических методов варьирует в диапазоне от 65 до 95%, при этом в эндемичных регионах она может быть ниже. Необходимо учитывать, что высокие титры антител почти всегда указывают на наличие бруцеллезной инфекции, однако антитела в низких титрах или их полное отсутствие не исключают возможности заболевания.

В литературе описано достаточное количество случаев, демонстрирующих ненадежность

стандартных серологических тестов для диагностики бруцеллеза. Приводятся результаты клинического наблюдения, в которых бруцеллез был серонегативным во все периоды исследования, при этом из крови больных были выделены культуры бруцелл [7, 8, 9, 15].

Следует иметь в виду, что серологические методы диагностики могут давать ложноположительные результаты при инфекциях, вызванных *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* 0-9, *Salmonella typhimurium* и патогенными эшерихиями.

Недостаточная эффективность существующих методов диагностики бруцеллеза в последующем могут привести к назначению неадекватной этиотропной и патогенетической терапии, что инициирует хронизацию бруцеллезного процесса с высоким риском формирования необратимых органных поражений и инвалидности у больных.

Усовершенствование комплекса лабораторной диагностики бруцеллезной инфекции требует разработки современных дополнительных методов верификации, основанных на клеточных факторах иммунитета, как ведущих в иммуногенезе и патогенезе бруцеллеза [12].

Учитывая ведущую роль клеточного иммунитета в формировании защиты от большинства бактериальных особо опасных инфекций, изучение клеточной реакции в ответ на антигенную стимуляцию следует считать наиболее информативным (маркерным) и объективным при оценке иммунологической перестройки организма при болезни или вакцинации [1].

В настоящее время в лабораторную практику внедрена технология проточной цитофлуориметрии, которая обладает рядом неоспоримых преимуществ — высокая точность, воспроизводимость измерений, надежность и достоверность результатов, возможность анализировать минимальные концентрации клеток и растворенных аналитов в образце, высокая скорость проведения анализа, применение компьютерной техники при регистрации, обработке, накоплении и хранении информации, обеспечение внутреннего и внешнего лабораторного контроля качества исследований [5].

По данным ряда авторов перспективными показателями специфической клеточной антигенреактивности могут выступать следующие маркеры (рецепторы) активации лимфоцитов: CD25 — высокоаффинный рецептор интерлейкина 2 (IL-2R α), маркер ранней активации Т-лимфоцитов; HLA-DR — антиген главного комплекса гистосовместимости класса II, экспрессия маркера ассоциирована не только с поздней, но и длительной активацией лимфоцитов; CD95 (Fas, APO-1) — рецептор индукции апоптоза («клеточной смерти»), маркер «позд-

ней» активации (представлен преимущественно на CD4⁺ лимфоцитах) и Fas L (CD178) — рецептор индукции апоптоза, экспрессируется в основном на CD8⁺ клетках [11, 13, 14].

Цель работы — оценить возможность и перспективность применения технологии проточной цитофлуориметрии и клеточных тестов *in vitro* для диагностики острого бруцеллеза.

Материалы и методы

Обследовали 35 человек с диагнозом «Острый бруцеллез» и 12 человек — не больные, не переболевшие бруцеллезом, не вакцинированные против бруцеллеза (контрольная группа).

Исследования проводили с помощью проточного цитофлуориметра (FACS Calibur, США), используя моноклональные антитела к поверхностным антигенам клеток крови человека (Beckman Coulter, США). Определяли количество лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CD25, HLA-DR, CD95, CD95L (CD178) при активации специфическим антигеном. Постановку реакции для выявления маркеров активации лимфоцитов *in vitro* осуществляли в течение 24 ч после взятия крови. В качестве специфического антигена использовали бруцеллин (ФГУП «НПО Микроген», Россия), для выявления уровня спонтанной активации использовали стерильный 0,9% раствор NaCl (далее — физ. раствор). Обеззараживание исследуемого материала от больных острым бруцеллезом осуществляли в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)».

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием пакета компьютерных программ Microsoft Excel. Определяли основные характеристики описательной статистики: среднее (M), ошибку среднего (m). Достоверность различия средних рассчитывали по критерию Стьюдента (t) для коэффициентов вариации, уровень значимости P выбран менее 0,05.

Результаты

При анализе интенсивности экспрессии рецептора IL-2R α лимфоцитами установлено, что у обследуемых контрольной группы фоновые (без активации) значения в среднем составляли $10,42 \pm 1,19\%$, при активации физ. раствором — $11,12 \pm 1,15\%$, бруцеллином — $12,41 \pm 0,98\%$. В группе больных острым бруцеллезом уровень экспрессии маркера CD25, без активации, составил в среднем $14,71 \pm 1,02\%$, при инкубации с физ. раствором — $13,28 \pm 0,99\%$. Уровень экспрессии лимфоцитами CD25 при стимуляции бруцеллином, статистически значимо увели-



Рисунок 1. Значение интенсивности экспрессии лимфоцитами маркера CD25 у больных острым бруцеллезом (n = 35) при антигенспецифической активации

Figure 1. The value of the intensity of expression of lymphocyte marker CD25 in patients with acute brucellosis (n = 35) with the antigen-specific activation

чился в сравнении с фоновыми значениями и при активации физ. раствором, составив в среднем $17,81 \pm 1,16\%$ ($p \leq 0,05$).

Увеличение интенсивности экспрессии лимфоцитами CD25, более чем на 10% от фоновых (исходных) значений, выявлено у 74,3% (26 человек) обследуемых с острым бруцеллезом (рис. 1).

Оценка уровня экспрессии маркера поздней активации лимфоцитов — HLA-DR — показала, что в контрольной группе фоновые значения составили в среднем $24,93 \pm 2,27\%$, при активации физ. раствором — $25,53 \pm 2,40\%$, бруцеллином — $25,90 \pm 2,49\%$. В группе больных острым бруцеллезом фоновые значения интенсивности экспрессии антигена HLA-DR составили $34,12 \pm 3,02\%$, при стимуляции физ. раствором — $35,74 \pm 2,23\%$, бруцеллином — $41,33 \pm 2,28\%$.

Повышение уровня экспрессии маркеров «поздней активации» более чем на 10% установлено у 54,3% (19 человек) больных острым бруцеллезом.

Анализ активности экспрессии рецептора индукции апоптоза — CD95 — позволил установить, что у людей не больных, не переболевших бруцеллезом, не вакцинированных против бруцеллеза, фоновое количество CD95⁺ лимфоцитов в среднем составило $10,11 \pm 0,71\%$, при инкубации с физ. раствором — $9,72 \pm 0,50\%$, с бруцеллином — $10,04 \pm 0,56\%$. У больных острым бруцеллезом исследуемый показатель (фоновое значение) составил — $22,51 \pm 2,03\%$, при активации физ. раствором $23,76 \pm 1,61\%$. При инкубации лимфоцитов с бруцеллином уровень CD95⁺ лимфоцитов статистически значимо увеличился в среднем до $30,62 \pm 1,60\%$ ($p \leq 0,01$), при

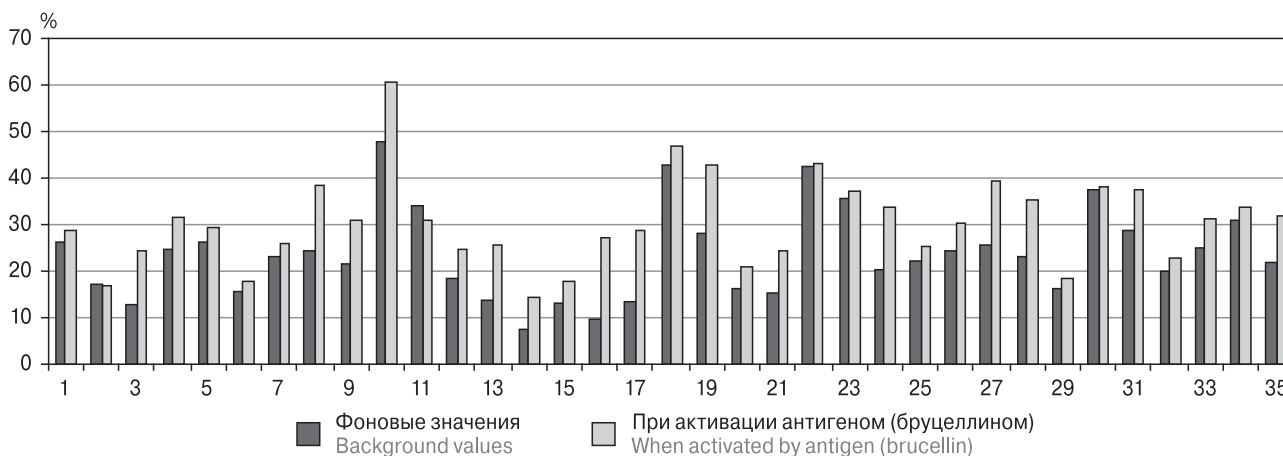


Рисунок 2. Значение интенсивности экспрессии лимфоцитами маркера CD95 у больных острым бруцеллезом (n = 35) при антигенспецифической активации

Figure 2. The value of the intensity of expression of lymphocyte marker CD95 in patients with acute brucellosis (n = 35) with the antigen-specific activation



Рисунок 3. Значение интенсивности экспрессии лимфоцитами маркера CD95L (CD178) у больных острым бруцеллезом (n = 35) при антигенспецифической активации

Figure 3. The value of the intensity of expression of lymphocyte marker CD95L (CD178) in patients with acute brucellosis (n = 35) with the antigen-specific activation

этом повышение уровня экспрессии «рецептора смерти», более чем на 10%, зафиксировано у 77,14% (27 человек) обследуемых с острым бруцеллезом (рис. 2).

Исследования интенсивности экспрессии рецептора CD178 показали, что в контрольной группе фоновый уровень CD178⁺ лимфоцитов в крови составил в среднем $0,65 \pm 0,07\%$, при активации физ. раствором — $0,51 \pm 0,03\%$, бруцеллином — $0,61 \pm 0,04\%$. В группе больных острым бруцеллезом фоновое количество CD178⁺ лимфоцитов составило в среднем $1,15 \pm 0,17\%$, при стимуляции клеток физ. раствором — $1,18 \pm 0,14\%$. При активации лимфоцитов бруцеллином количество лимфоцитов, экспрессирующих CD178, статистически достоверно увеличилось в среднем до $2,20 \pm 0,21\%$ ($p \leq 0,05$) (рис. 3).

Также установлено, что у 85,7% (30 человек) больных острым бруцеллезом, повышение интенсивности экспрессии CD178 наблюдалось более чем на 10%.

Таким образом, проведенные исследования указывают на возможность и реальную перспективу использования технологии проточной цитофлуориметрии и клеточных тестов *in vitro* для диагностики острого бруцеллеза.

Установлено, что интенсивность антиген-стимулированной активации лимфоцитов *in vitro*, можно использовать в качестве маркера острой бруцеллезной инфекции у человека. Наиболее перспективными показателями активации лимфоцитов *in vitro*, можно считать рецепторы к IL-2 (CD25) и маркеры апоптоза — CD95, CD95L (CD178).

Список литературы/References

1. Богачева Н.В., Дармов И.В., Кучеренко А.С. Оценка иммунореактивности лиц, вакцинированных чумной, сибирезвезной, бруцеллезной, туляремийной живыми сухими вакцинами и противоботулиническим трианатоксином, в зависимости от уровня иммунологической нагрузки // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013. № 6 (73). С. 79–84. [Bogacheva N.V., Darmov I.V., Kucherenko A.S. Evaluation of immunoreactivity of persons vaccinated with plague, anthrax, brucellosis, tularemia live dry vaccines and protivobotulinicheskoy tributacion, depending on the level of immunological load. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2013, no. 6 (73), pp. 79–84. (In Russ.)]
2. Лямкин Г.И., Пономаренко Д.Г., Худолеев А.А., Вилинская С.В., Зайцев А.А., Куличенко А.Н. Эпидемическая ситуация по бруцеллезу в Российской Федерации и государствах — участниках Содружества Независимых Государств // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2016. № 1. С. 68–74. [Lyamkin G.I., Ponomarenko D.G., Khudoleev A.A., Vilinska S.V., Zaitsev A.A., Kulichenko A.N. The epidemic situation on brucellosis in the Russian Federation and the States — participants of the Commonwealth of Independent States. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2016, no. 1, pp. 68–74. (In Russ.)]
3. Малов В.А. Терапевтические маски бруцеллеза // Фарматека. 2011. № 4. С. 22–28. [Malov V.A. Therapeutic mask of brucellosis. *Farmateka = Pharmateca*, 2011, no. 4, pp. 22–28. (In Russ.)]
4. Саркисян Н.С., Пономаренко Д.Г., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Куличенко А.Н. Интенсивность специфической сенсибилизации и иммунный статус у больных бруцеллезом // Медицинская иммунология. 2016. Т. 18, № 4. С. 365–372. [Sarkisian N.S., Ponomarenko D.G., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Kulichenko A.N. The intensity of specific sensitization and immune status in patients with brucellosis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, vol. 18, no. 4, pp. 365–372. doi: 10.15789/1563-0625-2016-4-365-372 (In Russ.)]

5. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Возможности проточной цитофлюориметрии в диагностике инфекционных заболеваний. Часть 1 // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, № 1. С. 59–66. [Khaidukov S.V., Zurochka A.V. Opportunities of flow cytometry in diagnostics of infectious diseases. Part 1. *Infektsiya i иммунитет = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, vol. 1, no. 1, pp. 59–66. doi: 10.15789/2220-7619-2011-1-59-66 (In Russ.)]
6. Чистякова Н.В., Коновалова М.А., Бокерия О.А., Малов В.А., Шептулин А.А. Трудности диагностики бруцеллеза в клинике внутренних болезней // Клиническая медицина. 2004. № 6. С. 67–68. [Chistyakova N.V., Konovalova M.A., Bokeriya O.A., Malov V.A., Sheptulin A.A. Difficulties in the diagnosis of brucellosis at the clinic of internal diseases. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*, 2004, no. 6, pp. 67–68. (In Russ.)]
7. Corbel M.J. Brucellosis: an overview. *Emerg. Infect. Dis.*, 1997, no. 3, pp. 213–221. doi: 10.3201/eid0302.970219
8. Naha K., Dasari S., Pandit V., Seshadri S. A rare case of seronegative culture-proven infection with *Brucella suis*. *Australas Med. J.*, 2012, vol. 5, no. 7, pp. 340–343. doi: 10.4066/AMJ.2012.1177
9. Potasman I., Even L., Banai M., Cohen E., Angel D., Jaffe M. Brucellosis: an unusual diagnosis for a seronegative patient with abscesses, osteomyelitis, and ulcerative colitis. *Rev. Infect. Dis.*, 1991, vol. 13, pp. 1039–1042.
10. Queipo-Ortuno M.I., Colmenero J.D., Baeza G., Morata P. Comparison between LightCycler Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) assay with serum and PCR-enzyme-linked immunosorbent assay with whole blood samples for the diagnosis of human brucellosis. *Clin. Infect. Dis.*, 2005, vol. 40, pp. 260–264. doi: 10.1086/426818
11. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *J. Nat. Immunol.*, 2005, vol. 6, no. 4, pp. 345–352. doi: 10.1038/ni1178
12. Skendros P., Boura P. Immunity to brucellosis. *Rev. Sci. Tech.*, 2013, vol. 32, no. 1, pp. 137–147.
13. Skendros P., Sarantopoulos A., Tselios K., Boura P. Chronic brucellosis patients retain low frequency of CD4⁺ T-lymphocytes expressing CD25 and CD28 after *Escherichia coli* LPS stimulation of PHA-cultured PBMCs. *J. Clin. Dev. Immunol.*, 2008, vol. 2008: 327346. doi: 10.1155/2008/327346
14. Starska K., Głowacka E., Kulig A., Lewy-Trenda I., Bryś M., Lewkowicz P. Prognostic value of the immunological phenomena and relationship with clinicopathological characteristics of the tumor—the expression of the early CD69⁺, CD71⁺ and the late CD25⁺, CD26⁺, HLA/DR⁺ activation markers on T CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes in squamous cell laryngeal carcinoma. Part II. *J. Folia Histochem. Cytobiol.*, 2011, vol. 49, no. 4, pp. 593–603. doi: 10.5603/FHC.2011.0082
15. Tekin-Koruk S., Duygu F., Gursoy B., Karaagac L., Bayraktar M. A rare case of seronegative neurobrucellosis. *Ann. Saudi Med.*, 2010, vol. 30, no. 5, pp. 412–414. doi: 10.4103/0256-4947.67084

Авторы:

Костюченко М.В., научный сотрудник сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Пономаренко Д.Г., к.б.н., зав. лабораторией бруцеллеза ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Ракитина Е.Л., к.м.н., ведущий научный сотрудник сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Логвиненко О.В., к.б.н., зав. сектором иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия;

Санникова И.В., профессор кафедры инфекционных болезней и фтизиатрии иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет МЗ РФ; Главный внештатный инфекционист МЗ Ставропольского края, г. Ставрополь, Россия;

Дейнека Д.А., ассистент кафедры инфекционных болезней и фтизиатрии ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Ставрополь, Россия;

Голубь О.Г., зав. отделением диагностики, лечения и экспертизы профпатологии бруцеллеза ГБУЗ СК Городская клиническая больница № 2, г. Ставрополь, Россия.

Authors:

Kostyuchenko M.V., Researcher, Department of Immunology and Pathomorphology Dangerous Infectious Diseases, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation;

Ponomarenko D.G., PhD, MD (Biology), Head of the Laboratory of Brucellosis, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation;

Rakitina E.L., PhD (Medicine), Leading Researcher, Department of Immunology and Pathomorphology of Especially Dangerous Infectious Diseases, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation;

Logvinenko O.V., PhD, MD (Biology), Head of the Department of Immunology and Pathomorphology of Especially Dangerous Infectious Diseases, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation;

Sannikova I.V., Professor of the Department of Infectious Diseases and Phthisiology, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation; The Chief Infectious Diseases Specialist of the Stavropol Region, Stavropol, Russian Federation;

Dejneka D.A., Assistant Professor, Department of Infectious Diseases and Phthisiology, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation;

Golub O.G., Head of the Department of Diagnostic, Treatment and Examination of Pathology of Brucellosis, City Clinical Hospital No. 2, Stavropol, Russian Federation.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://iimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Инфекция и иммунитет» и «Инструкцией для авторов», представленной на сайте. С февраля 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» публикует статьи на двух языках (русском и английском).

Основные виды статей, публикуемых в журнале

Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел **«Благодарности»** не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллегам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реактивов или оборудования, как правило, помещаются в разделе «Материалы и методы».

Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано ниже (см. «Подготовка статей»). Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Описание статьи из журнала:

Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Иммунологические методы в дифференциальной диагностике // Туберкулез и болезни легких. 2011. Т. 88, № 11. С. 50–53.

Salina T.Yu., Morozova T.I. Immunological methods in differential diagnostics. Tuberculosis and Lung Diseases, 2011, vol. 88, no. 11, pp. 50–53.

Описание статьи из книги (монографии):

Шурыгина И.А., Чеснокова М.В., Климов В.Т. Псевдотуберкулез. Новосибирск: Наука, 2003. 320 с.

Shurygina I.A., Chesnokova M.V., Klimov V.T. Pseudotuberculosis. Novosibirsk: Nauka, 2003. 320 p.

Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Turenne C.Y., Wallace R., Behr M.A. Mycobacterium avium in the postgenomic era. Clin. Microb. Rev., 2007, vol. 20, no. 2, pp. 205–229.

Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. Basic and Clinical Immunology. Ed. Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G. Appleton & Lange, 1994, pp. 66–79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. Не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Узаконенные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения, регламентированного международными правилами (с, ч, см, мл, мг, kDa и т.д.).

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, т.е. ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота — 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца — 82 мм, для 2 столбцов — 170 мм

Таблицы. Каждая таблица предоставляется отдельным файлом. Таблицы нумеруются арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их включения в текст статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка в отдельный файл. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарисовочные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tif (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Инфекция и иммунитет» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

При предоставлении статьи авторы должны руководствоваться требованиями, приведенными в нижеследующих пунктах. Статья может быть отклонена, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Инфекция и иммунитет» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации или книги. Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.
2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.
3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:
 - 1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках);
 - название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах);
 - почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках);
 - телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail;
 - фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности;
 - полное название статьи, направляемой в редакцию;
 - количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц;
 - раздела журнала, для которого предназначена данная работа: «Лекции», «Обзоры», «Оригинальные статьи», «Краткие сообщения», «В помощь практическому врачу»;
 - дата отправления работы.
 - 2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»).

- 3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:
 - название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);
 - подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа; в случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное учреждение; для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);
 - сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);
 - не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках;
 - адрес для переписки с указанием номера телефона, факса и адреса e-mail.
- 4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.
- 5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).
- 6) Файл в формате .doc, .docx, .rtf со списком, в котором указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные.
- 7) Таблицы, если они есть — каждая отдельным файлом (название каждой таблицы должно быть приведены заголовком в файле с самой таблицей).
- 8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература») в виде таблицы из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

| Порядковый номер ссылки | Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные | Ф.И.О., название публикации и источника на английском языке | Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее DOI |
|---|--|---|--|
| Размещаются в таблице в алфавитном порядке, вначале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой | Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше | Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована — для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий, редакция просит предоставлять их перевод, обозначая его красным цветом шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк | В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в т.ч. системы www.e-library.ru . DOI статьи приводится в квадратных скобках после URL-адреса |

4. Текст должен быть набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.
5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям.
6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать на сайте журнала (<http://iimmun.ru>) в рубрике «Рецензирование» раздела «О журнале».

**Вы можете оформить подписку на журнал
 «Инфекция и иммунитет» через отделения связи:
 Каталог «Роспечать» — индекс 95001;
 Объединенный каталог «Пресса России» и электронный каталог «Российская периодика»
 в сети Internet на сайте www.agrk.org — индекс 41392.
 Цена свободная.
 Подписка на электронную версию журнала
 на сайте www.elibrary.ru**

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

| | | | |
|------------------------|--------|------------------------|----|
| Алешкин В.А. | 69 | Ломая М.В. | 41 |
| Антипова А.Ю. | 7, 79 | Лялина Л.В. | 34 |
| Бен Маму М. | 69 | Мамаева Т.А. | 69 |
| Бичурин М.А. | 79 | Мокроусов И.В. | 34 |
| Борисов А.Г. | 51 | Мошев А.В. | 51 |
| Буаро М.И. | 79 | Мудунов А.М. | 41 |
| Ветров В.В. | 34 | Нарвская О.В. | 34 |
| Вишневецкий Б.И. | 34 | Наумова М.А. | 69 |
| Воробейчиков Е.В. | 69 | Никонов И.Ю. | 27 |
| Вязовая А.А. | 34 | Первова О.В. | 51 |
| Гвоздев И.И. | 51 | Пономаренко Д.Г. | 91 |
| Голубь О.Г. | 91 | Попова А.Ю. | 79 |
| Гончарова Е.В. | 41 | Ракитина Е.Л. | 91 |
| Гугунов Д.В. | 41 | Савченко А.А. | 51 |
| Гурцевич В.Э. | 41 | Санникова И.В. | 91 |
| Дейнека Д.А. | 91 | Сенюта Н.Б. | 41 |
| Душенькина Т.Е. | 41 | Сморозинцева Е.А. | 27 |
| Железнова Н.В. | 69, 79 | Соловьева Н.С. | 34 |
| Журавлев В.Ю. | 34 | Соминина А.А. | 27 |
| Игнатова А.В. | 41 | Столяров К.А. | 27 |
| Иккес Л.А. | 85 | Тотоян Арег А. | 79 |
| Калинина Н.М. | 21 | Тутельян А.В. | 61 |
| Коншина О.С. | 27 | Черданцев Д.В. | 51 |
| Кормилицына А.В. | 21 | Чехляева Т.С. | 69 |
| Костюченко М.В. | 91 | Шакина Н.А. | 85 |
| Кудрявцев И.В. | 51 | Шипилов М.В. | 61 |
| Куртасова Л.М. | 85 | Щербак Л.Н. | 41 |
| Лаврентьева И.Н. | 7, 79 | Щербакова С.А. | 79 |
| Логвиненко О.В. | 91 | | |

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

| | | | |
|---|--------|--|----|
| аденоассоциированный вирус | 7 | лейкоциты | 85 |
| активные формы кислорода | 51 | маркеры активации лимфоцитов | 91 |
| антигенреактивность лимфоцитов | 91 | метаанализ | 61 |
| блосграмма | 61 | множественная лекарственная устойчивость | 34 |
| бокавирус | 7 | нейтрофилы | 51 |
| бруцеллез | 91 | онкоген LMP1 | 41 |
| буфавирус | 7 | парвовирус | 7 |
| вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 | 27 | перитонит | 51 |
| вирус гриппа А(Н3N2) | 27 | популяционный иммунитет | 27 |
| вирус гриппа В | 27 | провоспалительные цитокины | 21 |
| вирус Эпштейна—Барр | 41, 85 | программа элиминации | 79 |
| внутренний лабораторный контроль | 69 | проточная цитофлуориметрия | 91 |
| ВОЗ | 79 | рак носоглотки | 41 |
| Гвинейская Республика | 79 | респираторный взрыв | 51 |
| генотип Beijing | 34 | специфические IgM- и IgG-антитела | 69 |
| грипп | 27 | сполиготи́пирование | 34 |
| грипп А(Н1N1)pdm09 | 61 | субпопуляция Th1 | 21 |
| гуморальный ответ | 41 | тест антигенной стимуляции клеток | 91 |
| диагностика острого бруцеллеза | 91 | тест-система | 69 |
| динамика послеоперационного периода | 51 | тузавирус 1 | 7 |
| заболеваемость | 27, 79 | тяжесть течения | 61 |
| иммунопатогенез акне | 21 | угревая болезнь | 21 |
| интерлейкин-6 | 61 | фагоцитоз | 51 |
| интерлейкины | 21 | цитокины | 61 |
| интерферон | 85 | широкая лекарственная устойчивость | 34 |
| ИФА | 69 | IgG-антитела | 79 |
| клеточная чувствительность | 85 | MIRU-VNTR | 34 |
| клинический случай | 21 | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 34 |
| корь | 69, 79 | PARV4 | 7 |
| краснуха | 69 | <i>Parvoviridae</i> | 7 |