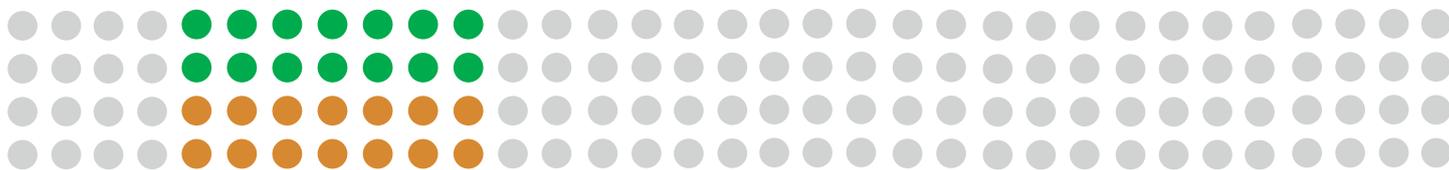


2020

# ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ



*МедипалТех*

*Обеспечение лечебных учреждений и лабораторий*

# НОВАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДИАГНОСТИКИ COVID-19

Набор реагентов «SARS-CoV-2-ПЦР» предназначен для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией

**Регистрационное удостоверение РЗН 2020/10032 от 14.04.2020**

Производитель набора: ООО «МедипалТех»

Высокая точность ● Оперативное обеспечение  
Быстрый результат ● Доставка по РФ  
Подтвержденное качество ● Принимаем заказы 24/7

- Определение развивающегося инфекционного процесса на самой ранней стадии
- Общее время от получения материала в лаборатории до получения результата — около 5 часов
- Набор демонстрирует высокую аналитическую чувствительность (2–5 копий РНК на реакцию, что соответствует всего 50–100 вирусным частицам в мазке)
- Для использования в клиничко-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике

\* Подробные характеристики набора содержатся в Инструкции по применению

141983, Московская область, г. Дубна, ул. Программистов, 4  
115230, Москва, Варшавское шоссе, дом 47, корп. 4  
+7 (499) 300-14-05 [info@medipaltech.ru](mailto:info@medipaltech.ru) [www.medipaltech.ru](http://www.medipaltech.ru)

# ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

июль–сентябрь

2020, том 10

№ 3

*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.б.н., профессор, академик РАН, директор Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, зав. лабораторией молекулярной иммунологии, Санкт-Петербург, Россия

## Заместитель главного редактора

**Мокроусов 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 Ангелюффа, зав. отделом инфекционной микробиологии, София, Болгария  
**Онищенко Г.Г.** д.м.н., профессор, академик РАН, первый заместитель председателя Комитета Государственной Думы по образованию и науке, 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, научный руководитель 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  
**Хайтов 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, научный руководитель Института иммунологии и физиологии, Екатеринбург, Россия  
**Шпигель А.** д.м.н., профессор, директор Института Пастера Мадагаскара, Антананариву, Мадагаскар

## Редакционный совет

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

**Ответственный секретарь:** Ракитянская Н.В. (Санкт-Петербург)

**Редактор перевода:** Исаков Д.В., к.м.н. (Санкт-Петербург)

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

**Редактор электронной версии:** Ерофеева В.С. (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](http://www.iimmun.ru) и [www.elibrary.ru](http://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 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в Web of Science (Emerging Sources Citation Index)**

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

### Адрес редакции:

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.  
Тел.: (812) 233-08-58.

### Издательство НИИЭМ имени Пастера

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.  
Тел./факс: (812) 232-07-42.  
E-mail: [izdatelstvo@pasteurorg.ru](mailto:izdatelstvo@pasteurorg.ru)

### Типография ООО «Аллегро»

196084, Санкт-Петербург,  
ул. Коли Томчака, 28.  
Тел./факс: (812) 388-90-00.

Подписано в печать 14.07.2020 г. Формат 60 x 90 1/8.  
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 25.  
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).  
Заказ № 1202

© Инфекция и иммунитет  
© Северо-Западное отделение медицинских наук, 2020  
© НИИЭМ имени Пастера, 2020  
© СПб РО РААКИ, 2020

---

# Russian Journal of Infection and Immunity

## (Infektsiya i immunitet)

July–September

2020, volume 10

No. 3

---

*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, N.F. Gamaleya Federal Center 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, First Deputy Chairman of the State Duma Committee on Education and Science, 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, Scientific 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 Director, Moscow, Russian Federation

**Valery A. Chereshev** PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology and Physiology, Scientific Director, Yekaterinburg, Russian Federation

**Andre Spiegel** PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Madagascar, Director, Antananarivo, Madagascar

## Members of editorial council

<b>Vladimir A. Aleshkin</b>	PhD, MD (Biology), Professor, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation
<b>Oleg V. Bukharin</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Research Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Scientific Director, Orenburg, Russian Federation
<b>Boris I. Vishnevsky</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, Research Institute of Phthiopulmonology, Head Researcher, Department of Laboratory Diagnostic, St. Petersburg, Russian Federation
<b>Ilija I. Dolgushin</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Chelyabinsk State Medical Academy, President, Moscow, Russian Federation
<b>Vitaly V. Zverev</b>	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
<b>Ludmila P. Zueva</b>	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
<b>Lidiia A. Kaftyreva</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Intestinal Infections, St. Petersburg, Russian Federation
<b>Kirill P. Kashkin</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Russian Academy of Postgraduate Medical Education, Professor of the Department of Immunology, Moscow, Russian Federation
<b>Olga I. Kubar</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Leading Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
<b>Victor V. Maleev</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Adviser of the Director, Moscow, Russian Federation
<b>Olga V. Narvskaya</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg, Leading Researcher, Russian Federation
<b>Alevtina M. Savicheva</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation
<b>Sergei A. Selkov</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Immunology, St. Petersburg, Russian Federation
<b>Viktor V. Tets</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, Pavlov State Medical University, Head of the Department of Microbiology and Virology, St. Petersburg, Russian Federation
<b>Susanna M. Kharit</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Head of the Prevention Department of Infectious Diseases, St. Petersburg, Russian Federation
<b>Sergei B. Cheknev</b>	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
<b>Vyacheslav V. Shkarin</b>	PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, State Medical Academy, President, Head of the Department of Epidemiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

**Assistant editor:** Natalia V. Rakitianskaia (St. Petersburg)

**Translation editor:** Dmitrii V. Isakov (St. Petersburg)

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

**Online version editorial manager:** Vera S. Erofeeva (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](http://www.iimmun.ru) and [www.elibrary.ru](http://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 2016 the Russian Journal of Infection and Immunity is included in Web of Science (Emerging Sources Citation Index)**

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

## Editorial Office

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.  
Tel.: (812) 233-08-58.

## Publishing House of St. Petersburg Pasteur Institute

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.  
Phone/fax: (812) 232-07-42.  
E-mail: [izdatelstvo@pasteurorg.ru](mailto:izdatelstvo@pasteurorg.ru)

## Produced at the Allegro Printing House

196084, Russian Federation, St. Petersburg,  
Koli Tomchaka str., 28.  
Phone/fax: (812) 388-90-00.

Passed for printing 14.07.2020. Print format 60 x 90 1/8.  
Offset printing. Printed sheets 25.  
Circulation 2000 copies. (1<sup>st</sup> edition – 1000 copies).

© Russian Journal of Infection and Immunity =  
Infektsiya i immunitet

© North-West Regional Branch of Medical Sciences, 2020

© St. Petersburg Pasteur Institute, 2020

© SPb RAACI, 2020

# СОДЕРЖАНИЕ

<b>Страница главного редактора</b> .....	409
--	-----

## Передовая статья

*Семенов А.В., Пшеничная Н.Ю.*

<b>УРОКИ ЭПИДЕМИИ COVID-19 В ИТАЛИИ</b> .....	410
---	-----

## Обзоры

*Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Бургасова О.А., Кружкова И.С., Малеев В.В.*

<b>COVID-19: ЭТИОЛОГИЯ, КЛИНИКА, ЛЕЧЕНИЕ</b> .....	421
--	-----

*Смирнов В.С., Тотолян Арег А.*

<b>НЕКОТОРЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ</b> .....	446
--	-----

*Лядова И.В., Стариков А.А.*

<b>COVID-19 И ВАКЦИНАЦИЯ БЦЖ: ЕСТЬ ЛИ СВЯЗЬ?</b> .....	459
--	-----

*Слонова Д.А., Посвятенко А.В., Кибардин А.В., Георгиев Г.П., Гнучев Н.В., Ларин С.С.*

<b>РОЛЬ ПЕПТИДОГЛИКАН-РАСПОЗНАЮЩИХ БЕЛКОВ В РЕГУЛЯЦИИ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА</b> .....	469
--	-----

*Еремеева М.Е., Мунис-Родригес К.*

<b>ОСПОВИДНЫЙ РИККЕТСИОЗ — РЕДКОЕ, НО НЕ ИСЧЕЗНУВШЕЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ</b> .....	477
--	-----

*Алимов А.В., Игонина Е.П., Фельдблюм И.В., Чалала В.И., Захарова Ю.А.*

<b>СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ЭНТЕРОВИРУСНЫХ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ</b> .....	486
---	-----

## Оригинальные статьи

*Еремеева М.Е., Стуржеон М.М., Уиллард Д.К., Карпати С.Е., Мадан А., Даш Г.А.*

<b>ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТИПИРОВАНИЕ <i>RICKETTSIA AKARI</i></b> .....	497
---	-----

*Шурыгина А.-П.С., Заболотных Н.В., Виноградова Т.И., Васильев К.А., Бузицкая Ж.В., Стукова М.А.*

<b>ИНДУКЦИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ С ФЕНОТИПОМ КЛЕТОК ПАМЯТИ В ЛЕГКИХ МЫШЕЙ ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ИММУНИЗАЦИИ ГРИППОЗНЫМ ВЕКТОРОМ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИМ МИКОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ БЕЛКИ</b> .....	506
---	-----

*Куртасова Л.М., Шакина Н.А., Лубнина Т.В.*

<b>ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ</b> .....	515
---	-----

*Костинов М.П., Игнатъева М.А., Новикова С.В., Шмицько А.Д., Полищук В.Б., Ахматова Н.К., Сависько А.А., Костинов А.М.*

<b>ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА D И ИНТЕРФЕРОНА <math>\alpha</math>-2b НА ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС БЕРЕМЕННЫХ С ВАГИНАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ</b> .....	524
---	-----

*Сюзюмова Е.А., Тельнова Н.В., Шапарь А.О., Асланов Б.И., Стоянова Н.А., Токаревич Н.К.*

<b>ЭКОЛОГО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ</b> .....	533
--	-----

*Турдиева Ш.Т., Шамансурова Э.А.*

<b>ОСОБЕННОСТИ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ <i>HELICOBACTER PYLORI</i>, У ДЕТЕЙ</b> .....	543
--	-----

## Краткие сообщения

Коленчукова О.А., Сарматова Н.И., Мошев А.В.

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ КРОВИ В ОТВЕТ НА МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНЫЕ ШТАММЫ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* .....** 551

Агарков Н.М., Макарян А.С., Гонтарева И.С.

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА У ДЕТЕЙ .....** 558

Кафтырева Л.А., Егорова С.А., Макарова М.А.

**ДЕТЕКЦИЯ МЕЖДУНАРОДНЫХ КЛОНОВ ВЫСОКОГО РИСКА *SALMONELLA* И *ESCHERICHIA COLI* – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ С ПИЩЕВЫМИ ПРОДУКТАМИ, В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ .....** 565

Лаврентьева И.Н., Бичурина М.А., Антипова А.Ю., Камара Ж., Магассуба Н'Ф.

**ВЫЯВЛЕНИЕ СЛУЧАЕВ КОРИ В ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ В 2017–2018 гг. ....** 570

Черенова Л.П., Аракельян Р.С., Михайловская Т.М.

**ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ КИШЕЧНОГО АМЕБИАЗА В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ .....** 575

Салиева С.Т., Жолдошев С.Т.

**КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВОГО БОТУЛИЗМА В ЮЖНОМ РЕГИОНЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ .....** 581

Воробьева О.В., Ласточкин А.В.

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ПРИ COVID-19 .....** 587

## Методы

Сиволодский Е.П., Горелова Г.В., Богословская С.П., Зуева Е.В.

**СЕЛЕКТИВНАЯ СИНТЕТИЧЕСКАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА «АЦИНЕТОБАКТЕР ФЕНИЛАЛАНИН АГАР» ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ КОМПЛЕКСА *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* – *ACINETOBACTER BAUMANNII* .....** 591

**Правила для авторов .....** 597

**Авторский указатель .....** 600

**Предметный указатель .....** 600

# CONTENTS

**Editor-in-chief page** ..... 409

## Lead article

*Semenov A.V., Pshenichnaya N.Yu.*

**LESSONS TO LEARN: COVID-19 EPIDEMIC IN ITALY** ..... 410

## Reviews

*Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Burgasova O.A., Kruzhkova I.S., Maleev V.V.*

**COVID-19: ETIOLOGY, CLINICAL PICTURE, TREATMENT** ..... 421

*Smirnov V.S., Totolian Areg A.*

**SOME OPPORTUNITIES FOR IMMUNOTHERAPY IN CORONAVIRUS INFECTION** ..... 446

*Lyadova I.V., Staricov A.A.*

**COVID-19 AND BCG VACCINE: IS THERE A LINK?** ..... 459

*Slonova D.A., Posvyatenko A.V., Kibardin A.V., Georgiev G.P., Gnuchev N.V., Larin S.S.*

**A ROLE OF PEPTIDOGLYCAN RECOGNITION PROTEINS IN REGULATING INNATE IMMUNE RESPONSE** ..... 469

*Eremeeva M.E., Muniz-Rodriguez K.*

**RICKETTSIALPOX – A RARE BUT NOT EXTINCT DISEASE: REVIEW OF THE LITERATURE AND NEW DIRECTIONS** ..... 477

*Alimov A.V., Igonina E.P., Feldblum I.V., Chalapa V.I., Zakharova Yu.A.*

**CURRENT STATUS OF HEALTHCARE-ASSOCIATED ENTEROVIRAL (NON-POLIO) INFECTIONS** ..... 486

## Original articles

*Eremeeva M.E., Sturgeon M.M., Willard J.K., Karpathy S.E., Madan A., Dasch G.A.*

**MOLECULAR TYPING OF RICKETTSIA AKARI** ..... 497

*Shurygina A.-P.S., Zabolotnykh N.V., Vinogradova T.I., Vasiliev K.A., Buzitskaya Zh.V., Stukova M.A.*

**LUNG MEMORY T-CELL RESPONSE IN MICE FOLLOWING INTRANASAL IMMUNIZATION WITH INFLUENZA VECTOR EXPRESSING MYCOBACTERIAL PROTEINS** ..... 506

*Kurtasova L.M., Shakina N.A., Lubnina T.V.*

**METABOLIC CHANGES IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES FROM CHILDREN WITH RECURRENT RESPIRATORY INFECTIONS** ..... 515

*Kostinov M.P., Ignatieva M.A., Novikova S.V., Shmitko A.D., Polischuk V.B., Akhmatova N.K., Savisko A.A., Kostinov A.M.*

**EFFECT OF VITAMIN D AND INTERFERON  $\alpha$ -2b ON CYTOKINE PROFILE IN PREGNANT WOMEN WITH VAGINAL INFECTIONS** ..... 524

*Siuziumova E.A., Telnova N.V., Shapar A.O., Aslanov B.I., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K.*

**ECOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN ST. PETERSBURG** ..... 533

*Turdieva Sh.T., Shamansurova E.A.*

**FEATURES OF THE ENDOSCOPIC PICTURE IN PAEDIATRIC GASTRODUODENAL DISEASES CAUSED BY HELICOBACTER PYLORI** ..... 543

## Short communications

*Kolenchukova O.A., Sarmatova N.I., Moshev A.V.*

**PHAGOCYTIC ACTIVITY OF BLOOD MONOCYTES IN RESPONSE TO METHICILLIN-RESISTANT STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS** ..... 551

<i>Agarkov N.M., Makaryan A.S., Gontareva I.S.</i> <b>ADVANCING DIAGNOSTICS OF CHRONIC PARADONTITIS IN CHILDREN</b> .....	558
<i>Kaftyreva L.A., Egorova S.A., Makarova M.A.</i> <b>DETECTION OF INTERNATIONAL HIGH-RISK CLONES OF FOOD-BORNE PATHOGENS <i>SALMONELLA</i> AND <i>ESCHERICHIA COLI</i> IN THE RUSSIAN FEDERATION</b> .....	565
<i>Lavrentieva I.N., Bichurina M.A., Antipova A.Yu., Camara J., Magassouba N'F.</i> <b>DETECTION OF MEASLES CASES IN THE REPUBLIC OF GUINEA IN 2017–2018</b> .....	570
<i>Cherenova L.P., Arakelyan R.S., Mikhailovskaya T.M.</i> <b>FEATURES OF THE COURSE OF CONTEMPORARY INTESTINAL AMEBIASIS</b> .....	575
<i>Salieva S.T., Zholdoshev S.T.</i> <b>CLINICAL CHARACTERISTICS OF FOODBORNE BOTULISM IN THE SOUTHERN REGION OF THE KYRGYZ REPUBLIC</b> .....	581
<i>Vorobeva O.V., Lastochkin A.V.</i> <b>ORGAN-SPECIFIC PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES DURING COVID-19</b> .....	587
<b>Methods</b>	
<i>Sivolodskii E.P., Gorelova G.V., Bogoslovskaya S.P., Zueva E.V.</i> <b>SELECTIVE SYNTHETIC GROWTH MEDIUM «ACINETOBACTER PHENYLALANINE AGAR» FOR ISOLATION AND IDENTIFICATION OF <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> – <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> COMPLEX SPECIES</b> .....	591
<b>Instructions to Authors</b> .....	597
<b>Author index</b> .....	600
<b>Subject index</b> .....	600

### Уважаемые коллеги и читатели журнала «Инфекция и иммунитет»!

Настоящий выпуск журнала, так же как и предыдущий, выходит в свет в период продолжающейся пандемии COVID-19. За шесть месяцев знакомства с новым коронавирусом SARS-CoV-2 разработано множество средств идентификации этого вируса и средств диагностики инфекции. У отечественных специалистов появился собственный незаменимый опыт профилактики, диагностики и лечения COVID-19. Несколько статей данного выпуска посвящено этой актуальной инфекции.

Передовая статья «Уроки эпидемии COVID-19 в Италии» авторов А.В. Семенова и Н.Ю. Пшеничной по существу является продолжением статьи «Рожденная в Ухане: уроки эпидемии COVID-2019 в Китае», опубликованной в предыдущем номере, и представляет интерес тем, что авторы поделились личным опытом работы в составе российской гуманитарной миссии в г. Бергамо (Италия) весной 2020 года. В трех обзорах подробно обсуждаются этиология, клиника и лечение COVID-19, основные возможности иммунотерапии при коронавирусной инфекции, а также механизмы возможной взаимосвязи между эпидемией и вакцинацией БЦЖ. Особое место занимает оригинальное исследование, посвященное патоморфологическим изменениям в органах при COVID-19.

Учитывая актуальность проблемы, мы планируем освещать ее и в последующих номерах нашего журнала.

Главный редактор журнала  
«Инфекция и иммунитет»,  
академик РАН, д.м.н., профессор



Арег А. Тотолян

# УРОКИ ЭПИДЕМИИ COVID-19 В ИТАЛИИ

А.В. Семенов<sup>1,2</sup>, Н.Ю. Пшеничная<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

**Резюме.** В статье приводится оценка эпидемии COVID-19 в Италии, масштабы которой привели к серьезнейшим вызовам для общества и для национальной системы здравоохранения. После информирования ВОЗ о ситуации, связанной с угрозой пандемического распространения коронавирусной инфекции, Италия своевременно закрыла границы с Китаем, но после возникновения случаев COVID-19, связанных с местной трансмиссией, экстренно не ввела ограничительные меры на первом этапе развития эпидемии. В результате лавинообразный рост числа больных с вирусной пневмонией привел к колоссальной перегрузке системы здравоохранения, снижению соблюдения мер инфекционного контроля и, как следствие, инфицированию медицинских работников, составивших около 10% всех больных. Социально уязвимые группы населения не обращались своевременно за медицинской помощью из-за нехватки коечного фонда и подготовленного персонала. На втором этапе развития эпидемии ограничительные меры также вводились с опозданием и неодновременно в соседних регионах, сохранялся недостаточный уровень исполнения противоэпидемических мероприятий, что нашло свое отражение в продолжающемся росте эпидемической кривой в течение длительного времени. Отсроченное введение комплекса мер, направленных на борьбу с эпидемией, привело к значительному росту заболеваемости и смертности среди уязвимых групп населения, повысило скорость распространения возбудителя и замедлило темпы снижения заболеваемости COVID-19. Анализ ответных мер на эпидемию COVID-19 в Италии должен быть учтен другими странами в борьбе с текущей пандемией и в подготовке к ответу на биологические угрозы в будущем.

**Ключевые слова:** COVID-19, эпидемическая кривая, Италия, коронавирус, SARS-CoV-2, контроль над эпидемией.

## LESSONS TO LEARN: COVID-19 EPIDEMIC IN ITALY

Semenov A.V.<sup>a,b</sup>, Pshenichnaya N.Yu.<sup>c,d</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>c</sup> Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

<sup>d</sup> Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation

**Abstract.** Here we provide the assessment of COVID-19 epidemic in Italy, which scale has led to serious challenges both for society and national health care system. Despite timely information regarding the pandemic spread of the novel coronavirus infection, the country's health care was not prepared to dramatically increased rate of patients with viral pneumonia at the first stage of the epidemic, infection control measures were not fully implemented that also led to spread of infection among health care workers. Socially vulnerable population groups did not seek timely medical care due to the lack of hospital facilities as well as well-trained medical personnel. At the second stage of developing epidemic, were also delayed and

---

### Адрес для переписки:

Семенов Александр Владимирович  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.  
Тел.: 8 (812) 233-20-92.  
E-mail: alexvsemenov@gmail.com

### Contacts:

Alexander V. Semenov  
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,  
St. Petersburg Pasteur Institute.  
Phone: +7 (812) 233-20-92.  
E-mail: alexvsemenov@gmail.com

### Библиографическое описание:

Семенов А.В., Пшеничная Н.Ю. Уроки эпидемии COVID-19 в Италии // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 410–420. doi: 10.15789/2220-7619-LTL-1468

### Citation:

Semenov A.V., Pshenichnaya N.Yu. Lessons to learn: COVID-19 epidemic in Italy // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 410–420. doi: 10.15789/2220-7619-LTL-1468

© Семенов А.В., Пшеничная Н.Ю., 2020

**DOI:** <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-LTL-1468>

executed at varying timepoints in neighbor regions, with sustained insufficient management after implementing them that was reflected as ongoing rise of epidemic curve over long time. Delayed execution of anti-epidemic restrictive measures aimed at fighting against ongoing epidemic resulted in substantially increased morbidity and mortality among vulnerable population groups and retarded rate of decreasing COVID-19 epidemic curve. Analyzing response measures taken in Italy against COVID-19 epidemic should be appreciated by other countries while dealing with the current pandemic and preparing to react to novel biological threats in the future.

**Key words:** COVID-2019, epidemic curve, Italy, coronavirus, SARS-CoV-2, epidemic control and response.

В то время как во всем мире национальные системы здравоохранения противостоят быстро развивающейся пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19), перед ними открываются новые вызовы. К моменту объявления ВОЗ о пандемии COVID-19, состоявшегося 11 марта 2020 г. [19], в мире уже было зарегистрировано более 150 000 случаев COVID-19 на территории 210 стран, причем более чем в 75 странах их число не достигало сотни. Различные страны проявили разное отношение к эпидемии, в том числе и к регистрации случаев, а также применили разные подходы к противостоянию COVID-19.

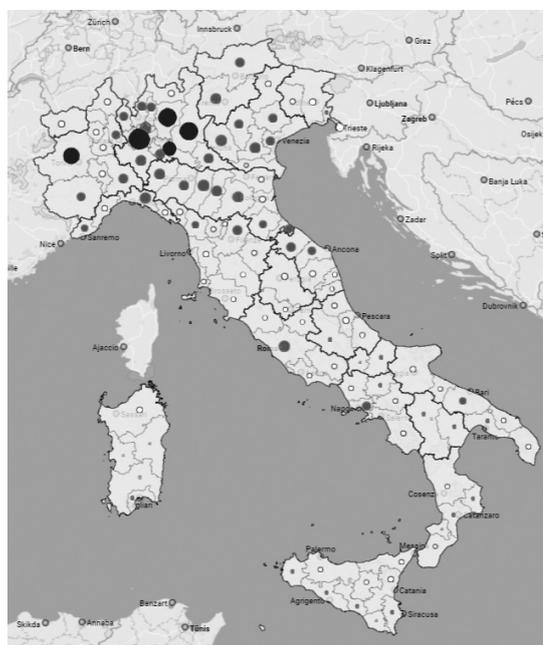
Несмотря на нарастающее количество случаев COVID-19 в мире, можно с высокой долей достоверности констатировать прекращение эпидемии коронавирусной инфекции в Китае и Корейской Республике к середине апреля 2020 г. Уже было написано много статей о практике проведения противоэпидемических мероприятий в таких странах, как Китай, Южная Корея, Сингапур и Тайвань, для подавления пандемии. К сожалению, на большей части Европейского Союза и в Соединенных Штатах Америки мероприятия по сдерживанию эпидемии COVID-19 были введены с определенным опозданием и сопровождалась целым рядом тактических просчетов. При этом повторяются многие ошибки, сделанные на ранних этапах развития пандемии в Италии, где она приобрела черты катастрофы (рис. 1).

Данная публикация является результатом обобщения личного опыта работы в составе российской гуманитарной миссии в г. Бергамо, Италия с 22 марта по 9 апреля 2020 г., а также анализа научных статей и публикаций в средствах массовой информации, посвященных истории, эпидемиологии и организации противостояния эпидемии COVID-19 в Италии в период с января по апрель 2020 г.

Первые завозные случаи COVID-19 в Италии были подтверждены 30 января 2020 г., у пожилой пары туристов из китайской провинции Хубэй, накануне госпитализированной с респираторными симптомами в Национальный институт инфекционных заболеваний в Риме [2]. Уже 31 января Италия, первая из стран Евросоюза, еще до объявления ВОЗ пандемии COVID-19,

National healthcare systems are confronting the rapidly evolving pandemic of the new coronavirus infection (COVID-19) worldwide and they face new challenges. At the moment of the COVID-19 pandemic WHO announcement on March 11, 2020 [19], more than 150,000 cases of COVID-19 had already been reported in 210 countries all around the world, with more than 75 countries having fewer than 100 disease cases only. Different countries showed different attitudes towards the epidemic, including the registration of cases as well as different approaches to combating COVID-19.

Despite the growing number of COVID-19 cases worldwide, it is possible to say with a high degree of probability that the epidemic of coronavirus infection in China and the Republic of Korea ended by mid-April 2020. Many articles have already been written on the practice of implementation anti-epidemic measures in countries such as China, South



**Рисунок 1. Географическое распространение COVID-19 в Италии по состоянию на 11 апреля 2020 года [Источник: <https://www.citypopulation.de/en/italy/covid>]**

Figure 1. Geographic distribution of COVID-19 in Italy as of April 11, 2020 [Source: <https://www.citypopulation.de/en/italy/covid>]

приняла решение прекратить авиасообщение с Китаем. В этот же день правительство Италии объявило шестимесячную чрезвычайную ситуацию в связи с рисками для здоровья, и такие меры были совершенно оправданы. В последующем стране потребовалось некоторое время, чтобы выработать общенациональную стратегию и приступить к ее реализации. Этот период крайне критично повлиял на ход эпидемии.

19 февраля 40 тыс. болельщиков из Бергамо едут в Милан на стадион «Сан-Сиро» посмотреть первый матч 1/8 финала Лиги Чемпионов («Аталанта» (Бергамо, Италия) — «Валенсия» (Валенсия, Испания)) и празднуют всю ночь победу итальянской команды. В последствии этот матч назовут «биологической бомбой» [1]. 20 и 21 февраля неподалеку от Милана и Падуи умирают первые жертвы коронавируса в Италии 76 и 78 лет Жена и дочь одного из умерших были среди 17 человек, инфицированных коронавирусом в Венето, где 22 февраля власти только рассматривали вопрос о закрытии Венецианского карнавала [11]. 21 февраля COVID-19 диагностирован у нескольких пациентов в Ломбардии, а на следующий день количество больных в этой области Италии возрастает уже до 60 человек [6, 13, 17], и далее число случаев растет в геометрической прогрессии. 22 февраля правительство определяет карантинную группу («красную зону») из нескольких городов в области Ломбардия. Этот район, где проживает около 50 000 человек, включал в себя Кодоньо, Кастильоне Д'Адда и Казальпюстерленго. Только 23 февраля власти Ломбардии и Венето принимают решение отменить все массовые общественные мероприятия, включая Венецианский карнавал, а также работу музеев, театров, школ. К тому моменту в Ломбардии насчитывалось уже 110 больных, в провинциях Эмилия-Романья, Венето, а также в Риме и Пьемонте еще 40 [12]. 8 марта карантин был распространен на всю область Ломбардия (около 10 млн человек) и ряд окружающих провинций в новой попытке предотвратить неконтролируемое распространение вируса в остальные регионы страны [3]. И только 9 марта, когда число больных превысило 9 тыс., число случаев увеличилось в 2 раза в течение последних 48 часов, число жертв приблизилось к 500 и по числу случаев Италия начала уступать лишь Китаю [<https://www.worldometers.info/coronavirus/country/italy>], декретом правительства карантин вводится во всей стране. К 21 марта принимается еще ряд ограничительных мер, запрещающих передвижения людей на всей территории страны, и останавливающих абсолютное большинство неосновных деловых операций [14]. Между тем, колоссальный ежедневный прирост новых больных COVID-19

Korea, Singapore and Taiwan to suppress a pandemic. Unfortunately, in much of the European Union countries and the United States of America, measures to contain the COVID-19 epidemic were introduced with a certain delay and were accompanied by a number of tactical miscalculations. At the same time, many mistakes made in the early stages of the pandemic development in Italy, where it acquired the features of a catastrophe, are repeated (fig. 1).

This article is the result of a humanitarian mission in Bergamo, Italy, from March 22 to April 9, 2020, as well as an analysis of scientific articles and publications in the media on the history, epidemiology and organization of the confrontation of the COVID-19 epidemic in Italy during the period January to April 2020.

The first imported cases of COVID-19 in Italy were confirmed on January 30, 2020, in an elderly couple of tourists from the Chinese province of Hubei. Both of them had been hospitalized with respiratory symptoms at the National Institute of Infectious Diseases in Rome a few days before [2]. As early as January 31, Italy, the first amongst European Union countries, decided to stop air travel with China even before the WHO announcement of the COVID-19 pandemic. On the same day the Italian government declared a six-month emergency for health risks and such measures were completely justified. Subsequently, it took the country some time to develop a nationwide strategy and begin to implement it. This time has extremely critical impact on the novel coronavirus epidemic course.

On February 19, 40 thousand Bergamo fans travel to the San Siro stadium in Milan to watch the first match of the Champions League 1/8 finals between “Atalanta” (Bergamo, Italy) — “Valencia” (Valencia, Spain) and celebrate the Italian team victory all night. Subsequently, this match will be called a “biological bomb” [1]. On February 20 and 21 near Milan and Padua the first victims of the coronavirus in Italy, 76 and 78 years old, died. The wife and daughter of one of the deceased were among 17 people infected with coronavirus in the Veneto region, where on February 22 the authorities were only considering closing the Venice Carnival [11]. On February 21, COVID-19 was diagnosed in several patients in Lombardy. And the next day, the number of patients in this region of Italy is already increasing up to 60 people [6, 13, 17] and then the number of cases starts to grow exponentially. On February 22, the government defines a quarantine group (the so-called “red zone”) from several cities in the Lombardy region. This area was a home to about 50,000 people, included the cities of Codogno, Castiglione D’Adda and Casalpusterlengo. At February 23 only the authorities of Lombardy and Veneto regions decided to cancel all public events including the Venice Carnival, as well as the work of museums, theaters, schools. By that time, there were already 110 patients

продолжается еще до 21 марта, когда был зарегистрирован рекорд — 6557 новых случаев за сутки, еще практически неделю растет прирост летальных исходов, достигая максимума (919 случаев). Вплоть до 5 апреля Италия занимает второе место по общему количеству случаев в стране, уступая только Китаю, а затем США [<https://www.worldometers.info/coronavirus/country/italy>].

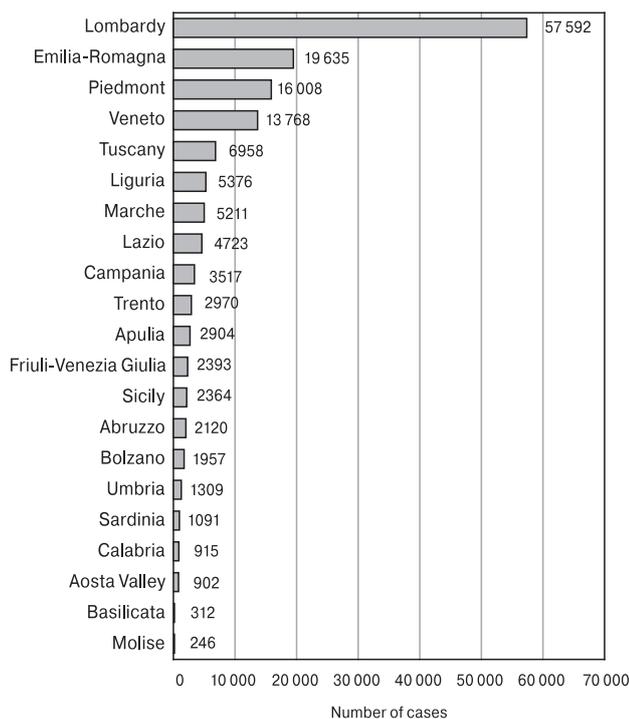
В середине марта смертность достигает 7,7%, что почти вдвое превышает цифры первых недель эпидемии. В целом на пике эпидемии 39,8% пациентов госпитализируются, 6,6% сразу поступает в отделения интенсивной терапии. По состоянию на 16 марта 2020 г. в Италии насчитывается 27 980 больных COVID-19, что в 2,8 раза превышает число случаев, зарегистрированных неделей ранее. Из них 8,4% являются медицинскими работниками, и доля их с течением времени растет [7]. Возникает острая нехватка коек, аппаратов ИВЛ, кадров, средств индивидуальной защиты и других ресурсов. Крайнее истощение, вызванное, с одной стороны, катастрофическим ростом госпитализаций, с другой — быстрым истощением медицинских ресурсов, приводит систему здравоохранения к коллапсу [3]. Об этом очень эмоционально в своей статье пишут Mirco Nacoti с соавт. (2020), работающие в 900-кочном современном госпитале имени Папы Джованни XXIII в Бергамо. 18 марта в Ломбардии с числом жителей немногим более 11 млн число заболевших достигло 4305 человек. Под COVID-19 в этом госпитале было отведено 300 терапевтических и 34 из имеющихся 48 реанимационных коек для пациентов с определенными шансами на выживание. Дефицит аппаратов ИВЛ ведет к тому, что с целью сохранения максимального количества лет жизни предпочтение начинает отдаваться людям в возрасте 40–50 лет, снижая и без того невысокие шансы выжить у лиц старше 75 лет. Пожилые пациенты не направляются в палаты интенсивной терапии и, оставаясь даже без надлежащей паллиативной помощи, умирают. Инфекция распространяется по соматическим отделениям госпиталя, не предназначенным для COVID-19. В других больницах в окрестностях ситуация была еще хуже. Не было медикаментов, аппаратов ИВЛ, кислорода, средств индивидуальной защиты. Пациенты лежали на полу на матрасах. Оказание медицинской помощи при беременности и родах также было затруднительно, так как все ресурсы были брошены на COVID-19 [8].

Когда Италия в начале марта начинает испытывать острую нехватку медицинских работников, правительство привлекает к оказанию медицинской помощи около 20 тыс. вышедших на пенсию врачей, а также студентов последних

in Lombardy, in the provinces of Emilia-Romagna, Veneto as well as in Rome and Piedmont, another 40 [12]. On March 8, quarantine was extended to the entire Lombardy region (population of about 10 million people) and a number of surrounding provinces in a new attempt to prevent the uncontrolled spread of the virus to other regions of the country [3]. And only on March 9, when the number of patients exceeded 9 thousand, the number of victims approached 500, i.e., Italy began to yield only to China in the number of patients with coronavirus infection, and the number of confirmed cases of COVID-19 doubled in 48 hours, national quarantine was imposed by a governmental decree throughout the country [14].

Subsequently, by March 21 a number of restrictive measures were taken prohibiting the movement of people throughout the country and stopping the vast majority of non-essential business activities. Meanwhile the colossal daily increase in new patients with COVID-19 continues until March 21, when a record was registered — 6557 new cases per day. The death toll from the coronavirus increases for almost a week, reaching a maximum of 919 cases per day. Until April 5, Italy ranks second in the total number of COVID-19 cases in the country, second only to China and then to the United States [<https://www.worldometers.info/coronavirus/country/italy>].

In mid-March mortality reaches 7.7%, which is almost double the figures of the first weeks of the epidemic. In general, at the peak of the epidemic, 39.8% of patients are hospitalized, 6.6% immediately go to the intensive care unit. As of March 16, 2020, there are 27,980 patients with COVID-19 in Italy which is 2.8 times the number of cases recorded a week earlier. Among them 8.4% are medical workers and their number increases over time [7]. There is an acute shortage of beds, ventilators, personnel, personal protective equipment and other resources. Extreme depletion caused on the one hand by a catastrophic increase in hospital admissions, and on the other hand by the rapid depletion of medical resources, leads to a collapse of the healthcare system [3]. Mirco Nacoti et al. (2020), who works in 900-beds modern hospital n.a. Pope Giovanni XXIII in Bergamo write about this very emotionally in their article. On March 18, in Lombardy, with a population of just over 11,000,000, the number of cases reached 4,305. Under COVID-19, 300 therapeutic and 34 out of 48 intensive care units available for patients with certain chances of survival were allocated in this hospital. A shortage of ventilation devices leads to the fact that in order to maintain the maximum number of years of life, preference is given to people aged 40–50 years, reducing the already low chance of survival in people over 75 years old. Elderly patients are not sent to intensive care wards and, with no access to proper palliative care, they die. The infection spreads to the somatic departments of the hospital not intended for COVID-19. But in other hospitals in the vicinity



**Рисунок 2. Число случаев COVID-19 в различных областях Италии по состоянию на 11 апреля 2020 [Источник: <https://www.statista.com/statistics/1099375/coronavirus-cases-by-region-in-italy>]**

Figure 2. The number of COVID-19 cases in various Italy regions as of April 11, 2020 [Source: <https://www.statista.com/statistics/1099375/coronavirus-cases-by-region-in-italy>]

курсов после специальной подготовки. Таким образом, пожилые медики с сопутствующими заболеваниями опять оказываются в строю, рискуя жизнью. Привлечение студентов, не имеющих опыта практической работы, снижает уровень инфекционного контроля в стационарах, так как более опытные врачи не всегда являются должным примером в его соблюдении [9].

В итоге, Италия с числом жителей в 23 раза меньшим, чем в Китае, обгоняет его по количеству случаев COVID-19 уже 23–24 марта 2020 г., то есть менее чем через 8 недель после первого подтвержденного случая заболевания. В течение очень короткого периода времени в стране развивается возможно самый большой кризис экономики и национальной системы здравоохранения со времен Второй мировой войны. Экономическое и психологическое воздействие эпидемии также огромно. Его следствием становятся социальные потрясения на всех уровнях общества. Например, 9 марта в тюрьмах городов Модена и Фоджа вспыхивают беспорядки [7]. Страдают многие отрасли итальянской экономики, которые в значительной степени основаны на семейном бизнесе.

the situation was even worse. There were no medicines, ventilators, oxygen, personal protective equipment. Patients were lying on the floor on mattresses. Providing medical assistance during pregnancy and childbirth was also difficult, since all resources were thrown at COVID-19 [8].

When Italy begins to suffer from acute shortage of medical workers in early March, the government recruits about 20 thousand medical workers from retired doctors, as well as final-year students after special training, to provide medical care. Thus, older physicians with concomitant diseases are again in the ranks, risking their lives. Attracting students who do not have enough practical work experience reduces the level of infection control in hospitals, as more experienced doctors are not always a proper example in observing it [9].

As a result, Italy with a population of 23 times less than in China overtakes it by the number of COVID-19 cases on March 23–24, 2020, i.e. less than 8 weeks after the first confirmed case of the disease. Within a very short period of time the country is shocked by perhaps the biggest crisis for the Italian economy and national health system since World War II. The economic and psychological impact of the epidemic is also huge, causing social upheaval at all levels of society, for example, on March 9 in prisons in the cities Modena and Foggia riots break out [7]. Many sectors of the Italian economy are suffering, which are largely based on the family business.

The total number of cases and deaths cannot be explained simply by the epidemic, especially compared to other countries. Italy before many others closed its borders with China, but nevertheless ended up among the countries most affected by COVID-19. Of course, a number of demographic parameters can explain the increased mortality, especially in the most affected Lombardy region. Italy ranks first in terms of the population average age in Europe ( $42.5 \pm 1.6$  years) and second in the world after Japan. In Lombardy, the average age is even greater ( $45.4 \pm 1.5$  years) than countrywide. In the Bergamo province (in turn, the oldest in the Lombardy region) 1.1 million people live, more than 25% are people over 65 years of age [18].

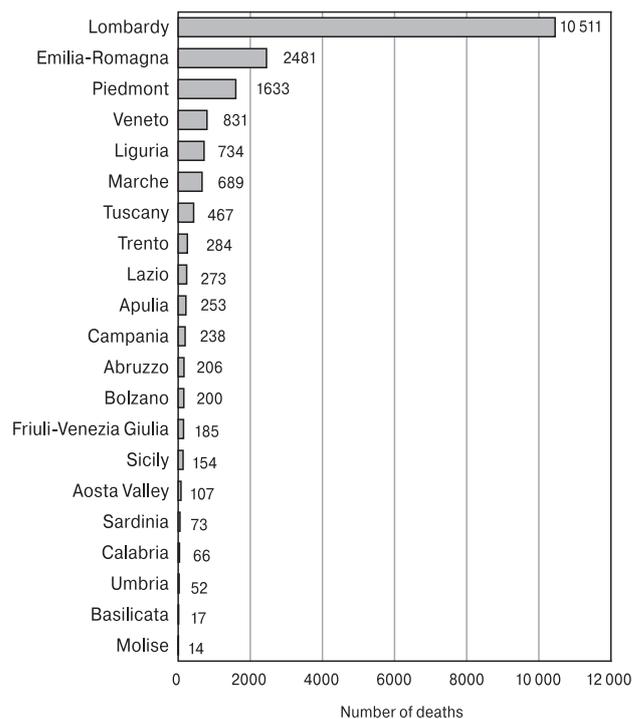
The average age of the dead in Italy is 80 years, and the average age of patients requiring intensive care and respiratory support is 67. As you know, the severity of COVID-19 disease and mortality are highly dependent on concomitant diseases. In Italy there is a high percentage of respiratory system and the cardiovascular system diseases as well as high prevalence of smokers. In addition, Lombardy has a high concentration of industrial enterprises, which may explain the high prevalence of chronic obstructive pulmonary disease. These are, of course, objective factors that should be taken into account when planning the structure of medical institutions in the region [1].

The requirement for active intervention and action by local healthcare system departments af-

Количество случаев заболевания и летальных исходов не может быть объяснено просто эпидемией, особенно в сравнении с другими странами. Италия раньше многих других закрыла границы с Китаем, но тем не менее оказалась среди наиболее пострадавших от нее государств. Конечно, ряд демографических параметров могут объяснить повышенную смертность, особенно в наиболее пострадавшей Ломбардии. Италия занимает первое место по среднему возрасту населения в Европе ( $42,5 \pm 1,6$  лет) и второе в мире после Японии. В Ломбардии средний возраст еще больше ( $47,5 \pm 1,5$  лет). В провинции Бергамо (в свою очередь самой возрастной в области Ломбардия) проживает 1,1 млн населения. При этом более 25% составляют люди старше 65 лет [18].

Средний возраст умерших в Италии — 80 лет, а средний возраст пациентов, нуждающихся в интенсивной терапии и реанимации, — 67. Как известно, тяжесть заболевания COVID-19 и смертность от нее сильно зависят от сопутствующих заболеваний. В Италии высокий процент болезней органов дыхания и сердечно-сосудистой системы, много курильщиков. Кроме того, в Ломбардии большая концентрация промышленных производств, что, возможно, объясняет и высокую распространенность хронической обструктивной болезни легких. Это, безусловно, объективные факторы, которые должны учитываться при планировании структуры лечебных учреждений региона [1].

Еще одно обстоятельство, которое следует принимать во внимание — это активное вмешательство местных департаментов системы здравоохранения при выявлении первых случаев заболевания в феврале. В городах, где было организовано широкомасштабное тестирование, в ходе которого выявлялись все случаи инфицирования, развитие эпидемии удавалось предотвратить. В частности, в коммуне Во области Венето, где все 3300 жителей прошли исследование на COVID-19 и было выявлено 3% вирусносителей, эпидемический процесс был остановлен [4]. В других областях Италии и, в частности, в Ломбардии, где отношение к тестированию было не такое тщательное, продолжилось распространение вируса. Возможная причина низкого охвата тестированием была связана с перегрузкой, вызванной лавинообразным выявлением случаев заболевания в Бергамо после упомянутого выше футбольного матча в Милане 19 февраля. Как следствие этого в Ломбардии, Эмилия-Романье и Венето число больных на 1 апреля составило, соответственно, 46, 13 и 9% от общего количества заболевших в Италии [1]. На момент написания статьи эта пропорция существенно не изменилась, как по числу случаев, так и по числу летальных исходов (рис. 2–3)



**Рисунок 3. Число летальных исходов от COVID-19 в различных областях Италии по состоянию на 11 апреля 2020**

[Источник: <https://www.statista.com/statistics/1099375/coronavirus-cases-by-region-in-italy>]

Figure 3. The number of deaths from COVID-19 in various Italy regions as of April 11, 2020

[Source: <https://www.statista.com/statistics/1099375/coronavirus-cases-by-region-in-italy>]

ter the first cases of the disease identification in February should also be taken into consideration. In cities where such testing was very widespread and all cases of infection were detected, the epidemic did not develop further. In particular, in the Vò municipality of the Veneto region, where all 3300 residents underwent a laboratory assay on COVID-19 and 3% of virus carriers were detected, the epidemic process was stopped [4]. In other areas of Italy and, in particular in Lombardy, where the attitude to testing was not so thorough, the spread of the virus continued. A possible reason for the low test coverage was due to overload caused by an avalanche of cases in Bergamo after the match in Milan on February 19. As a result, the number of patients in Lombardy, Emilia-Romagna and Veneto, accounts for 46%, 13% and 9% respectively as of April 1 of all Italian cases [1]. At the time of writing, this proportion has not changed significantly, as in the number of cases and by the number of deaths (fig. 2–3).

The well-known socialization of Italians, who even after the introduction of quarantine measures continued their social life without observing the recommended personal hygiene measures under COVID-19, also contributed to the epidemic.

Выраженная социализация итальянцев, которые даже после введения карантинных мер, продолжали активно общаться друг с другом, не соблюдая рекомендованные меры личной гигиены, также внесла свой вклад в развитие эпидемии.

Следующий момент, который необходимо учесть — малое количество реанимационных коек на душу населения [8,4 на 100 тыс. общих и 4,6 на 100 тыс. в неотложной кардиологии (в США — 36 на 100 тыс.)] и неправильное распределение ресурсов [5]. В начале эпидемии большинство мест было занято среднетяжелыми пациентами, что привело к дефициту коек для более тяжелых. Несоблюдение мер инфекционного контроля при работе с пациентами способствовало тому, что около 9 тыс. медицинских работников (9% всех случаев заболевания) 1 апреля оказались инфицированными. Это не только повлекло тотальный кадровый дефицит в медицинской отрасли, но и внутрибольничное распространение инфекции [16].

И еще один фактор, возможно повлиявший на темпы распространения инфекции — некоторое запаздывание с принятием решений в отношении ограничительных мероприятий, введение которых с опозданием в 1–2 дня является очень критичным.

Подобные модели поведения наблюдались во многих других странах, кроме Италии, и являются примером так называемого предвзятого подтверждения — тенденцией использовать информацию, которая подтверждает предпочтительную позицию или первоначальную гипотезу. Пандемия COVID-19, развиваясь экспоненциально, изначально представлялась незначительной угрозой, которой особенно сложно противостоять из-за весьма непопулярных мер в обществе, которые надо применять, причем опережая развитие того, что происходит в режиме реального времени. Самое эффективное время для принятия решительных действий связанных, как правило, с ограничительными мероприятиями наступает чрезвычайно рано, когда угроза кажется небольшой — или даже до того, как появятся какие-либо реальные угрозы. При этом эти меры будут очень скептически восприняты, несмотря на их необходимость, что крайне болезненно воспринимается популистски настроенными политиками.

Следует отметить неприятие частью политической элиты серьезности угрозы эпидемии COVID-19. На ранних стадиях развития пандемии COVID-19 в Италии сама возможность кризиса всерьез воспринималась немногими. Первоначальные заявления о необходимости введения чрезвычайного положения были встречены скептицизмом как со стороны общественности, так и со стороны многих полити-

The next point that needs to be taken into account is the relatively small number of ICU beds per capita of 8.4 per 100,000 population overall and 4.6 per 100,000 population in emergency cardiology (compare with 36 per 100,000 population in the USA) and the incorrect allocation of resources [5]. At the beginning of the epidemic many beds were occupied by patients with moderate disease course, which led to a shortage of beds for more severe ones. Failure to comply with infection control measures when working with patients contributed to the fact that about 9 thousand medical workers (9% of all cases of the disease) were infected on April 1. This not only caused a total personnel shortage in the medical industry but also supported the nosocomial spread of the infection [16].

And another factor that may have influenced the rate of infection spread is a certain delay in making decisions regarding restrictive measures, for which a delay of even 1–2 days is very critical.

Similar patterns of behavior have been observed in many other countries except Italy, and are an example of the so-called confirmation bias — a tendency to use information that confirms our preferred position or initial hypothesis. The COVID-19 pandemic, developing exponentially, initially appeared to be a minor threat, is especially difficult to confront because of the very unpopular measures in society that need to be applied, and ahead of what is happening in real time. The most effective time to take decisive actions, usually associated with restrictive measures, comes extremely early when the threat seems small — or even before any real threats appear. Moreover, these measures will be very skeptical despite their need, which is extremely painful for populists-minded politicians.

It should be noted that part of the political elite rejects the seriousness of the COVID-19 epidemic threat. In the early stages of the COVID-19 pandemic development in Italy the real possibility of a crisis was taken seriously by a few figures only. Initial statements about the need for a state of emergency were met with skepticism from both the public and many political circles, although not only WHO but also many Italian doctors and scientists had been warning about the possibility of a catastrophe for several weeks. It is significant but at the end of February 2020, some well-known Italian politicians despite the promotion of self-isolation, social distance, and other priority anti-epidemic hygiene measures began a meeting with a public handshake in Milan to emphasize that the economy should not panic and stop because of the virus. Such high-risk public behavior led to a sad result: a week later, one of these politicians was diagnosed as a COVID-19 positive [10].

There are quite objective reasons for this crisis (starting with its timing and geographical distribution), which were clearly not under the full control of the authorities and the national health system

ческих кругов, хотя не только ВОЗ, но и множество итальянских врачей и ученых в течение нескольких недель уже предупреждали о возможности катастрофы. Показательно, но еще в конце февраля 2020 г. некоторые известные итальянские политики, несмотря на пропаганду самоизоляции, социального дистанцирования, других первоочередных противоэпидемических гигиенических мероприятий, начали встречу с публичного рукопожатия в Милане, чтобы подчеркнуть, что экономика не должна останавливаться из-за эпидемии. Столь высокорисковое публичное поведение привело к печальному результату: неделю спустя у одного из этих политиков был диагностирован COVID-19 [10].

Существуют вполне объективные причины этого кризиса (начиная с его сроков и географии распространения), которые явно не находились под полным контролем властей и национальной системы здравоохранения Италии. Однако есть и целый ряд причин субъективного характера, с которыми сталкивались специалисты в Италии, признавая масштабы угрозы, создаваемой COVID-19, организовывая систематический ответ на нее и извлекая уроки из ранних успехов и неудач внедрения противоэпидемических мероприятий.

Стоит подчеркнуть, что эти субъективные причины проявлялись даже после того, как эпидемия COVID-19 уже полностью затронула Китай, Сингапур, Корейскую Республику, где некоторые альтернативные модели сдерживания вируса (в Китае, например) на тот момент уже были успешно внедрены.

Это говорит о недостаточно быстром и эффективном восприятии и анализе существующей информации, а также об адекватном реагировании на меняющуюся ситуацию, а не о полном отсутствии знаний о том, что следует делать в плане противодействия развитию эпидемии, как это было на начальном этапе развития пандемии COVID-19.

Еще одним из неблагоприятных факторов, способствовавших задержке реализации комплекса противоэпидемических мероприятий стала системная неготовность выслушать мнение экспертного сообщества политическими лидерами. Хотя к этому времени было реализовано несколько удачных подходов к межведомственной интеграции и подключению экспертного и научного сообщества к противодействию эпидемии. Нельзя не упомянуть опыт КНР, где созданный уже в первые дни эпидемии Оперативный штаб координировал действия не только Министерства здравоохранения, Центра по контролю за заболеваемостью, Министерства науки и технологий, Министерства лесного хозяйства и природ-

of Italy. However, there are a number of subjective reasons that experts in Italy faced, recognizing the magnitude of the threat posed by COVID-19, organizing a systematic response to it and drawing lessons from the early successes and failures of the implementation of anti-epidemic measures.

It is worth emphasizing that these subjective reasons manifested themselves even after the COVID-19 epidemic had already completely affected China, Singapore, and the Republic of Korea, where some alternative models of virus containment (in China, for example) were already successfully implemented.

This indicates insufficient and quick perception and analysis of existing information as well as an adequate response to a changing situation and not a complete lack of knowledge about what should be done in terms of countering the development of the epidemic, as it was at the initial stage of the development of the COVID-19 pandemic.

Another unfavorable factor that contributed to a protracted solution to the problem of implementing an anti-epidemic measures complex was a systemic unwillingness to listen to the opinion of the expert community by political leaders. Although, by this time, several successful approaches to interagency integration and the involvement of expert and scientific community in countering the epidemic have been implemented. One cannot fail to mention the experience of the PRC, where the Operational Headquarters, established in the early days of the epidemic, coordinated not only the Ministry of Health, the Center for Disease Control, the Ministry of Science and Technology, the Ministry of Forestry and Natural Resources, the Ministry of Internal Affairs, the Ministry of Transport and Communications and other ministries and departments involved in the response to the epidemic [15].

However, even a set of correct and rational anti-epidemic measures cannot be effective without understanding of the importance of a systematic approach and the dangers of partial, incomplete solutions. The Italian government in order to cope with the COVID-19 pandemic issued a series of decrees that gradually increased the zones of maximum quarantine restrictions (the so-called "red zones"), which were initially on the north of the country and then expanded until they eventually applied to the entire country.

Such an approach is considered reasonable, repeatedly tested and reliable. Similar restrictions were introduced during the pandemic during January-February 2020 in China and, as expected, brought a positive effect. Another example of containing the spread of the epidemic was demonstrated by Russia, which did not completely close the borders with any country in the world, including China, until March 27. Throughout the whole time, starting from the end of January, according to the decree and under the control of the Federal Service for Supervision

ных ресурсов, Министерства внутренних дел, Министерства транспорта и связи, но и других министерств и ведомств, участвующих в работе по противодействию эпидемии [15].

Однако даже комплекс правильных и рациональных противоэпидемических мероприятий не может быть эффективным при непонимании важности системного подхода к их планированию и опасности частичных, незавершенных решений при их реализации. Итальянское правительство, чтобы справиться с пандемией COVID-19, выпустило серию указов, в которых постепенно увеличивалась зона максимальных карантинных ограничений (так называемые «красные зоны»), которые изначально затронули север страны, а затем были расширены, пока они в конечном итоге не распространились на всю Италию.

Такой подход считается разумным, многократно опробованным и надежным. Подобные ограничения вводились уже во время этой пандемии в течение января-февраля 2020 г. в Китае и принесли, ожидаемо, позитивный эффект. Еще один пример сдерживания распространения эпидемии продемонстрировала Россия, которая полностью не закрывала границы ни с одной страной мира, в том числе, с Китаем, вплоть до 27 марта. На протяжении всего времени, начиная с конца января, согласно постановлению и под контролем Роспотребнадзора проводилось тестирование и тщательный мониторинг на протяжении инкубационного периода всех прибывающих из стран, где были зарегистрированы случаи локальной трансмиссии вируса. Это позволило нарастить мощности больниц, включая реанимационные койки, подготовить развертывание COVID-19 госпиталей, построить новые больницы из быстро возводимых конструкций, обучить медицинский персонал, разработать и нарастить мощности производства тест-систем. Были введены ограничения на передвижения пожилых людей за пределами места проживания и обеспечена их социальная поддержка. После начала выявления случаев локальной передачи вируса с 16 марта во всех регионах страны начали вводиться ограничительные, а после регистрации роста таких случаев с 30 марта, карантинные меры по всей стране. Это позволило предотвратить лавинообразный рост заболеваемости, в значительной мере снизив нагрузку на здравоохранение. К 21 апреля 2020 г. страна вышла на плато по заболеваемости, при этом летальность составила 0,1% [<https://stopkoronavirus.rf>; <https://rospotrebnadzor.ru>].

Но в ситуации итальянской эпидемии COVID-19 это привело к обратным последствиям по двум причинам. Во-первых, недостаточная системность при планировании и введении

of Consumer Rights Protection and Human Welfare, testing and careful monitoring were carried out during the incubation period of all persons arriving from countries where cases of local virus transmission were recorded. This made it possible to increase the capacity of hospitals, including resuscitation beds, to prepare the deployment of COVID-19 hospitals, to build new hospitals from rapidly erected structures, to train medical personnel, to develop and increase the production capacity of diagnostic test kits. Restrictions on the older people movement outside their place of residence were introduced and their social support was provided. After the detection of the virus local transmission cases starts from March 16, restrictive measures were introduced in all regions of the country. After the growth of such cases was registered since March 30, the quarantine measures across the country were implemented. This prevented an avalanche-like increase in incidence significantly reducing the burden on healthcare system. By April 21, 2020, the country reached a plateau in terms of incidence, with a mortality rate of 0.1% [<https://rospotrebnadzor.ru>].

But in the situation of the COVID-19 Italian epidemic this led to the opposite effect for two reasons. Firstly, the lack of consistency in the planning and implementation of restrictive measures was incompatible with the rapid exponential spread of the virus to new country regions. As a result, Italy monitored the spread of the virus, but did not prevent it. In addition, a selective approach to the introduction of restrictive measures inadvertently contributed to the spread of the virus. The decision to initially block some regions, which was not accompanied by complete blocking of roads between the regions, was ineffective, because as soon as the decree announcing the closure of Northern Italy became publicly available, it caused a mass exodus to Southern Italy, spreading the virus in regions where it was not there.

## Conclusions

Of course, just only a part of the reasons slowing down the adequate decision-making in real time was highlighted here, when the unfolding crisis required the fastest response at the level of the healthcare system, as well as at the level of the mass-media, various state and political institutions. Nevertheless, a number of lessons from the Italian experience of opposing COVID-19 can be useful to the international community:

- first of all, urgent quarantine measures should be implemented immediately after the registration of local transmission cases together with a maximum laboratory testing coverage of the population. This will help break the epidemic chain or reduce the spread of the epidemic, as well as gain time to build the capacity of medical institutions;

в действие ограничительных мероприятий была несовместимой с быстрым экспоненциальным распространением вируса на новые территории. В результате Италия следила за распространением вируса, а не предотвращала его. Кроме того, избирательный подход при введении ограничительных мероприятий непреднамеренно способствовал распространению вируса. Решение изначально заблокировать некоторые регионы, не сопровождавшееся полным перекрытием дорог между областями, было неэффективным, поскольку, как только указ, объявляющий о закрытии Северной Италии, стал общедоступным, он вызвал массовый исход в Южную Италию, что привело к распространению вируса в регионы, где его не было.

## Выводы

Разумеется, здесь освещена только часть причин, замедливших принятие адекватных решений в режиме реального времени, когда разворачивавшийся кризис требовал максимально быстрого реагирования как на уровне системы здравоохранения, так и на уровне масс-медиа, различных государственных и политических институтов.

Тем не менее целый ряд уроков из опыта противостояния COVID-19 может быть полезен интернациональному сообществу:

- прежде всего, необходимо немедленное введение карантинных мер сразу же после регистрации местных случаев передачи инфекции и максимальный охват населения тестированием. Это поможет прервать эпидемическую цепочку или снизить темп распространения эпидемии, а также выиграть время для наращивания потенциала лечебно-профилактических учреждений;
- в странах с ограниченным коечным фондом после введения ограничительных мероприятий следует отказаться от госпитализации пациентов, не требующих интенсивной терапии, за исключением больных из групп риска. Это значительно снизит нагрузку на стационары, уменьшит дефицит коек, хоть и в некоторых случаях будет способствовать к внутрисемейному распространению инфекции. Следует отметить, что оптимальным вариантом является госпитализация всех пациентов и изоляция контактов. Эффективность этих мер наглядно продемонстрировал Китай, но стационарные мощности многих стран не позволяют идти по этому варианту;
- необходимо строжайшее соблюдение санитарно-эпидемиологического режима в лечебных учреждениях; выявление и быстрая изоляция медицинских работников с при-

– in countries with a limited bed capacity, after the introduction of restrictive measures, hospitalization of patients who do not require intensive care should be abandoned, with the exception of patients from risk groups. This will significantly reduce the burden on hospitals, reduce the shortage of beds, although in some cases it will contribute to the infection distribution in family clusters. It should be noted that the best option is hospitalization of all patients and isolation of contacts. The effectiveness of these measures has been clearly demonstrated by China and Republic of Korea, but the hospital capacities of many countries do not allow us to follow this option;

– the strictest observance of the sanitary-epidemiological regime in medical institutions is necessary; identification and rapid isolation of medical workers with signs of infection, which will allow to keep hospital staff and prevent the spread of not only COVID-19, but also nosocomial bacterial flora;

– requires rapid diversification of medical resources in the event of the epidemic rapid development in certain regions of the country;

– in preparation for future pandemics of respiratory infections, one should focus on the seasonal incidence of influenza and ARI in each individual region and plan the load on mechanical ventilation facilities of not more than 80–85% at the peak of the epidemic, in order to always have a reserve of equipment and the possibility of resources emergency provision to other regions in case of urgency.

знаками инфекции, что позволит сохранить персонал стационаров и не допустить распространение не только COVID-19, но и внутрибольничной бактериальной флоры;

– требуется быстрая диверсификация медицинских ресурсов в случае бурного развития эпидемии в отдельных регионах страны;

– при подготовке к будущим пандемиям респираторных инфекций следует ориентироваться на сезонную заболеваемость гриппом и ОРВИ в каждом отдельном регионе и планировать нагрузку на ИВЛ не более 80–85% на пике эпидемии, для того чтобы всегда иметь резерв оборудования и возможность экстренного предоставления ресурсов другим регионам в случае острой необходимости.

## Список литературы/References

1. Boccia S., Ricciardi W., Ioannidis J.P. What other countries can learn from Italy during the COVID-19 pandemic. *JAMA Int. Med.* 2020 Apr 7. doi:10.1001/jamainternmed.2020.1447
2. Capobianchi M.R., Rueca M., Messina F., Giombini E., Carletti F., Colavita F., Castilletti C., Lalle E., Bordini L., Vairo F., Nicastrì E. Molecular characterization of SARS-CoV-2 from the first case of COVID-19 in Italy. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2020 Mar 27.
3. Cesari M., Proietti M. COVID-19 in Italy: ageism and decision-making in a pandemic. *J. Am. Med. Dir. Assoc.*, 2020 Apr 1.
4. Crisanti A., Cassone A. In one Italian town, we showed mass testing could eradicate the coronavirus. *The Guardian*. March 20, 2020. Accessed April 2, 2020. URL: <https://www.theguardian.com/commentisfree/2020/mar/20/eradicated-coronavirus-mass-testing-covid-19-italy-vo>
5. Epidemia COVID-19, aggiornamento nazionale: 30 marzo 2020. Task force COVID-19 del Dipartimento Malattie Infettive e Servizio di Informatica, Istituto Superiore di Sanità. Accessed April 2, 2020. URL: [https://www.epicentro.iss.it/coronavirus/bollettino/Bollettino-sorveglianza-integrata-COVID-19\\_30-marzo-2020.pdf](https://www.epicentro.iss.it/coronavirus/bollettino/Bollettino-sorveglianza-integrata-COVID-19_30-marzo-2020.pdf)
6. La Marca A., Niederberger C., Pellicer A., Nelson S.M. COVID-19: lessons from the Italian reproductive medical experience. *Fertil. Steril.*, 2020, vol. 113, no. 5, pp. 920–922.
7. Lazzarini M., Putoto G. COVID-19 in Italy: momentous decisions and many uncertainties. *Lancet*, 2020, vol. 8, iss. 5, e641–e642. doi: 10.1016/S2214-109X(20)30110-8
8. Nacoti M., Ciocca A., Giupponi A., Brambillasca P., Lussana F., Pisano M., Goisis G., Bonacina D., Fazzi F., Naspro R., Longhi L. At the epicenter of the Covid-19 pandemic and humanitarian crises in Italy: changing perspectives on preparation and mitigation. *NEJM Catalyst Innovations in Care Delivery*. 2020 Mar 21.
9. Paterlini M. On the front lines of coronavirus: the Italian response to COVID-19. *BMJ*, 2020 Mar 16.
10. Pisano G.P., Sadun R., Zanini M. Lessons from Italy's response to coronavirus. *Harvard Business Review*, 2020 Mar 27. URL: <https://hbr.org/2020/03/lessons-from-italys-response-to-coronavirus>
11. ProMED-mail. COVID-19 update (14): China, global, Iran, Italy, WHO. *ProMED-mail 2020*; 31 Jan: 20200223.7015552
12. ProMED-mail. COVID-19 update (14): China, global, Iran, Italy, WHO. *ProMED-mail 2020*; 23 Feb: 20200223.7015552
13. ProMED-mail. Novel coronavirus (25): updates, China, Italy, Russia, UK. *ProMED-mail 2020*; 31 Jan: 20200131.6940058
14. Remuzzi A., Remuzzi G. COVID-19 and Italy: what next? *Lancet*. 2020 Mar 13.
15. Semenov A.V., Pshenichnaya N.Yu. Born in Wuhan: lessons from COVID-19 epidemic in China. *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 210–220. doi: 10.15789/2220-7619-BIW-1453
16. Sorveglianza integrata COVID-19: I principali dati nazionali. *Istituto Superiore di Sanità*. March 11, 2020. Accessed April 2, 2020.
17. Spina S., Marrazzo F., Migliari M., Stucchi R., Sforza A., Fumagalli R. The response of Milan's Emergency Medical System to the COVID-19 outbreak in Italy. *Lancet*, 2020, vol. 395, iss. 10227: e49–e50.
18. United Nations: United Nations Population Division. *World Population Prospects 2019*
19. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 — 11 March 2020. *Geneva, Switzerland*. 2020 Mar. URL: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-COVID-19---11-march-2020>

## Авторы:

**Семенов А.В.**, д.б.н., зам. директора по инновационной работе, зав. лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;  
**Пшеничная Н.Ю.**, д.м.н., профессор, зам. директора по клинико-аналитической работе ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия; ведущий научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия.

## Authors:

**Semenov A.V.**, PhD (Biology), Deputy Director for Innovation, Head of the Laboratory of Virology and Immunology HIV, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Professor, Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;  
**Pshenichnaya N.Yu.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Clinical and Analytical Work, Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation, Moscow, Russian Federation; Leading Researcher, Central Research Laboratory, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Поступила в редакцию 24.04.2020  
 Принята к печати 06.05.2020

Received 24.04.2020  
 Accepted 06.05.2020

# COVID-19: ЭТИОЛОГИЯ, КЛИНИКА, ЛЕЧЕНИЕ

М.Ю. Щелканов<sup>1,2,3</sup>, Л.В. Колобухина<sup>4</sup>, О.А. Бургасова<sup>5</sup>, И.С. Кружкова<sup>4</sup>,  
В.В. Малеев<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Международный научно-образовательный центр биологической безопасности Роспотребнадзора в Дальневосточном федеральном университете, г. Владивосток, Россия

<sup>2</sup> Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

<sup>3</sup> ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае, г. Владивосток, Россия

<sup>4</sup> Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>5</sup> ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

<sup>6</sup> Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

**Резюме.** Если XX век вошел в историю изучения острых респираторных заболеваний как период формирования глубоководной системы борьбы с вирусами гриппа (*Articulavirales: Orthomyxoviridae, Alpha-/Betainfluenzavirus*) (от эколого-вирусологического мониторинга вируса гриппа А в его природном резервуаре — птицах водно-околоводного комплекса — до постоянного надзора за эпидемическим гриппом), то в XXI веке необходимо создавать аналогичную систему в отношении особо опасных бетакоронавирусов (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*): тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV — Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) (подрод *Sarbecovirus*), тяжелого острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 — Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) (*Sarbecovirus*), Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV — Middle East respiratory syndrome-related coronavirus) (*Merbecovirus*). Это стало особенно очевидно после того, как в 2020 г. SARS-CoV-2 проявил свой пандемический потенциал. В обзоре излагается история открытия этого вируса, его современное таксономическое положение, экология, морфология вириона, жизненный цикл, молекулярная биология, патогенез и клиническая картина этиологически связанного с ним COVID-19 (Coronavirus disease 2019 — коронавирусное заболевание 2019 г.), а также приводятся имеющиеся в научной литературе данные об анти-SARS-CoV-2-эффективности пассивной иммунотерапии и наиболее обсуждаемых на сегодняшний день препаратов, используемых для лечения COVID-19: Хлорохина, Гидроксихлорохина, Нитазоксанида, Ивермектина, Лопинавира и Ритонавира, Камостат-мезилата, Ремдесивира, Рибавирина, Тоцилизумаба, Анакинры, кортикостероидов, интерферонов I. Патогенез SARS-CoV-2-инфекции предполагает снижение эффективности искусственной вентиляции легких — в этом случае более эффективна экстракорпоральная мембранная оксигенация крови, дополненная ингаляциями оксида азота и/или Гелиокса.

**Ключевые слова:** COVID-19, SARS-CoV-2, 2019-nCoV, коронавирус, *Nidovirales, Coronaviridae, Betacoronavirus, Sarbecovirus*, клиническая картина, патогенез, лечение.

---

**Адрес для переписки:**

Щелканов Михаил Юрьевич  
690091, Россия, г. Владивосток, ул. Уткинская, 36.  
ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае.  
Тел.: 8 924 529-71-09, 8 903 268-90-98.  
E-mail: adorob@mail.ru

**Contacts:**

Mikhail Yu. Shchelkanov  
690091, Russian Federation, Vladivostok, Utkinskaya str., 36,  
Center for Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory.  
Phone: +7 924 529-71-09, +7 903 268-90-98.  
E-mail: adorob@mail.ru

**Библиографическое описание:**

Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Бургасова О.А., Кружкова И.С., Малеев В.В. COVID-19: этиология, клиника, лечение // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 421–445. doi: 10.15789/2220-7619-CEC-1473

**Citation:**

Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Burgasova O.A., Kruzhkova I.S., Maleev V.V. COVID-19: etiology, clinical picture, treatment // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 421–445. doi: 10.15789/2220-7619-CEC-1473

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ «Комплексный эколого-вирусологический мониторинг коронавирусов в экосистемах Дальнего Востока».

**COVID-19: ETIOLOGY, CLINICAL PICTURE, TREATMENT**Shchelkanov M.Yu.<sup>a,b,c</sup>, Kolobukhina L.V.<sup>d</sup>, Burgasova O.A.<sup>e</sup>, Kruzhkova I.S.<sup>d</sup>, Maleev V.V.<sup>f</sup><sup>a</sup> International Scientific and Educational Center for Biological Security of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation<sup>b</sup> Federal Scientific Center of East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of RAS, Vladivostok, Russian Federation<sup>c</sup> Center of Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory, Vladivostok, Russian Federation<sup>d</sup> D.I. Ivanovsky Institute of Virology of the N.F. Gamaleya National Scientific Center of Epidemiology and Microbiology, Russian Ministry of Public Health, Moscow, Russian Federation<sup>e</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation<sup>f</sup> Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** Whereas the XX century marked the history of acute respiratory disease investigation as a period for generating in-depth system of combating influenza viruses (*Articulavirales: Orthomyxoviridae, Alpha-/Betainfluenzavirus*) (based on environmental and virological monitoring of influenza A virus in its natural reservoir — aquatic and semi-aquatic birds — to supervising epidemic influenza), a similar system is necessary to build up in the XXI century with regard to especially dangerous betacoronaviruses (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*): Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus (SARS-CoV) (subgenus *Sarbecovirus*), Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (*Sarbecovirus*), Middle East respiratory syndrome-related coronavirus (MERS-CoV) (*Merbecovirus*). This became particularly evident after pandemic potential has been revealed in 2020 by the SARS-CoV-2. This review provides an insight into the historic timeline of discovering this virus, its current taxonomy, ecology, virion morphology, life cycle, molecular biology, pathogenesis and clinical picture of the etiologically related COVID-19 (Coronavirus disease 2019) as well as data available in the scientific literature on the anti-SARS-CoV-2-effectiveness of passive immunotherapy and most debated drugs used to treat COVID-19: Chloroquine, Hydroxychloroquine, Nitazoxanide, Ivermectin, Lopinavir and Ritonavir, Camostat mesilate, Remdesivir, Ribavirin, Tocilizumab, Anakinra, corticosteroids, and type I interferons. The pathogenesis of SARS-CoV-2 infection implicates decreased efficacy of artificial respiration, which, in this case might be replaced by more efficient extracorporeal membrane blood oxygenation supplemented with nitrogen oxide and/or Heliox inhalations.

**Key words:** COVID-19, SARS-CoV-2, 2019-nCoV, coronavirus, Nidovirales, Coronaviridae, Betacoronavirus, Sarbecovirus, clinical features, pathogenesis, treatment.

XX век вошел в историю эпидемиологии острых респираторных заболеваний (ОРЗ) как период всестороннего изучения природы гриппа и разработки глобальной системы его контроля [20, 29]. Эта система является многоуровневой и включает в себя эколого-вирусологический мониторинг вируса гриппа А (*Articulavirales: Orthomyxoviridae, Alphainfluenzavirus*) в его природном резервуаре — птицах водно-околоводного экологического комплекса [92, 93]; регулярный мониторинг эпидемических штаммов вирусов гриппа А и В (*Articulavirales: Orthomyxoviridae, Betainfluenzavirus*) с целью ежегодной корректировки состава вакцин [9, 17]; эпидемиологический [4, 11] и госпитальный [8, 13] надзор за гриппом; выявление штаммов, резистентных к существующим химиопрепаратам, и выяснение молекулярных механизмов развития резистентности [3, 23]; поиск новых противовирусных препаратов [5, 32] и терапевтических схем [6, 19].

XXI век начался с серьезного пересмотра эпидемического и пандемического потенциала бетакоронавирусов (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*)<sup>1</sup>, что требует разворачива-

ния столь же глубокоэшелонированной, как для гриппа, системы их контроля, начиная от природного резервуара — летучих мышей (*Chiroptera, Microchiroptera*) — до организации профилактических и противоэпидемических мероприятий [30, 76].

Первый коронавирус был открыт в 1931 г. — им стал вирус инфекционного бронхита (IBV — Infectious bronchitis virus), в 2009 г. переименованный в коронавирус птиц (ACoV — Avian coronavirus) (*Gammacoronavirus, Igacovirus*)<sup>2</sup>; первый коронавирус млекопитающих (1946 г.) — вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней (TGEV — Transmissible gastroenteritis virus), рассматриваемый сегодня как подвид альфа-коронавируса 1-го типа (AlphaCoV1 — Alphacoronavirus 1) (*Alphacoronavirus, Tegacovirus*); первый коронавирус человека (1965 г.) — HCoV-B814 (Human coronavirus B814), который, как и большинство коронавирусов человека, изолированных в 1960-х гг., не сохранился в микробиологических коллекциях, и его таксономическое положение осталось неидентифицированным [31]. Вплоть до начала нынешнего века коронавирусы воспринимались как серьез-

<sup>1</sup> В настоящее время, Coronaviridae включает 5 родов: *Alphaletovirus, Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Deltacoronavirus, Gammacoronavirus*, первый из которых входит в подсемейство *Letovirinae*, а остальные четыре — *Orthocoronavirinae* (см. подробности в [31]).

<sup>2</sup> Здесь и далее таксономическое положение коронавирусов (*Nidovirales, Cornidovirinae: Coronaviridae, Orthocoronavirinae*) приводится по сокращенному варианту (*Под, Подрод*).

ная ветеринарная проблема, однако известные в ту пору коронавирусы человека — HCoV-229E (*Alphacoronavirus*, *Duvinacovirus*) и HCoV-OC43 (*Betacoronavirus*, *Embecovirus*) — хотя и широко распространены, но вызывают ОРЗ с легким или среднетяжелым клиническим течением, лишь в 3–8% случаев сопровождающиеся поражением нижних отделов респираторного тракта и не связанные со статистически значимой летальностью [19, 20].

Отношение к коронавирусам человека кардинально изменилось в 2002 г., когда в южнокитайской провинции Гуандун произошел межвидовой переход вируса тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV — Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) (*Betacoronavirus*, *Sarbecovirus*) из популяции летучих мышей сначала в промежуточных хозяев — гималайских цивет (*Paguma larvata*), а затем в человеческую популяцию с последующим эпидемическим продолжением в форме ОРЗ [70, 84]. Эта эпидемия (01.11.2002–31.07.2003) сопровождалась многочисленными завозными случаями заболевания в 29 странах<sup>3</sup> (667 заболевших и 89 умерших за пределами Китая<sup>4,5</sup>), а итоговая летальность составила 9,6% (774/8096)<sup>6</sup> [20, 24, 30, 140].

В 2012 г. был идентифицирован вирус Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV — Middle East respiratory syndrome-related coronavirus) (*Betacoronavirus*, *Merbecovirus*) [43, 155], природные очаги которого, связанные с летучими мышами в качестве природного резервуара [20, 96] и одногорбыми верблюдами (*Camelus dromedarius*) в качестве промежуточных хозяев [40, 63], расположены на Аравийском полуострове. «Глеющая инфекция» MERS-CoV [27] периодически масштабируется в форме эпидемий как на природноочаговой территории [99], так и за ее пределами [28]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), интегральная летальность от MERS-CoV в 27 странах мира составляет 34,4% (866/2519) [137].

К концу 2019 г. среди 40 представителей<sup>7</sup> *Coronaviridae* были известны 6 вирусов человека. Тогда же начала развиваться эпидемия COVID-19 (Coronavirus disease 2019 — коронавирусное заболевание 2019 г.) [10, 31, 139], которая привела к идентификации седьмого коронавируса чело-

века (табл. 1), открывшего пандемический потенциал этого обширного и, по-видимому, не до конца изученного семейства [31].

Этиология COVID-19 была установлена в течение первого месяца после появления 08.12.2019 г. в г. Ухань, столице провинции Хубэй на востоке центральной части Китая, первого официально зарегистрированного случая пневмонии неясной этиологии [51, 112]. Это стало возможно благодаря развитию в Китае сети вирусологических учреждений, принадлежащих как Министерству здравоохранения, так и Академии наук КНР.

Эпидемическая опасность со стороны нового заболевания стала понятна уже 12.12.2019 г., когда был госпитализирован первый пациент, связанный с Уханьским Рыбным рынком (закрыт с 01.01.2020 г.) [162]. Этот рынок, подобно подавляющему большинству рынков Юго-Восточной Азии, относился к зоогастрономическому типу<sup>8</sup>, где животные (птицы, мелкие млекопитающие, беспозвоночные), предназначенных в пищу, продаются в живом виде. На территории зоогастрономических рынков искусственно создаются значительные плотности диких и сельскохозяйственных животных и людей, вследствие чего резко возрастают интенсивность и разнообразие популяционных взаимодействий, увеличивая вероятность межвидовых переходов для патогенных микроорганизмов [20, 134].

30.12.2019 г. медицинское управление города Ухань выпустило «срочное уведомление о появлении пневмонии неясной этиологии», а на следующий день Отделение ВОЗ в КНР было официально проинформировано о создавшейся ситуации. 03.01.2020 г. ВОЗ анонсировала эпидемическую вспышку пневмонии в Ухане с 44 заболевшими, из которых 27 (61,4%) посещали Рыбный рынок Уханя [138].

Идентификация ранее неизвестного представителя *Betacoronavirus*, получившего название 2019-nCoV (Novel coronavirus 2019 — новый коронавирус 2019 г.)<sup>9</sup>, была проведена с помощью метагеномного анализа (GenBank ID: NC\_045512) бронхоальвеолярного смыва 41-летнего работника Рыбного рынка, который был госпитализирован в палату интенсивной терапии Клинического Центра Фуданьского уни-

<sup>3</sup> Включая сам Китай, где завозные случаи регистрировались за пределами эпицентра эпидемии.

<sup>4</sup> Количество собственно завозных случаев было равно 121 — еще 546 случаев стали результатом последующих заражений.

<sup>5</sup> Один завозной случай SARS-CoV с благоприятным исходом был зарегистрирован на территории Российской Федерации в г. Благовещенске.

<sup>6</sup> В некоторых источниках приводится увеличенная статистика: 10,9% (916/8422). Это связано с тем, что ВОЗ исключила из статистики 326 случаев заболевания и 142 смертельных случая по формальным причинам недостаточности документального подтверждения.

<sup>7</sup> В первой половине 2020 г. в состав *Coronaviridae* вошли два новых вируса: SARS-CoV-2 (*Betacoronavirus*, *Sarbecovirus*) и коронавирус пальмовых крыланов C704 (BtCoV-C704 — Eidolon bat coronavirus C704) (*Betacoronavirus*, *Nobecovirus*).

<sup>8</sup> В англоязычной литературе зоогастрономические рынки носят название wet-markets (дословно — «сырые рынки»), что менее академично, но более достоверно.

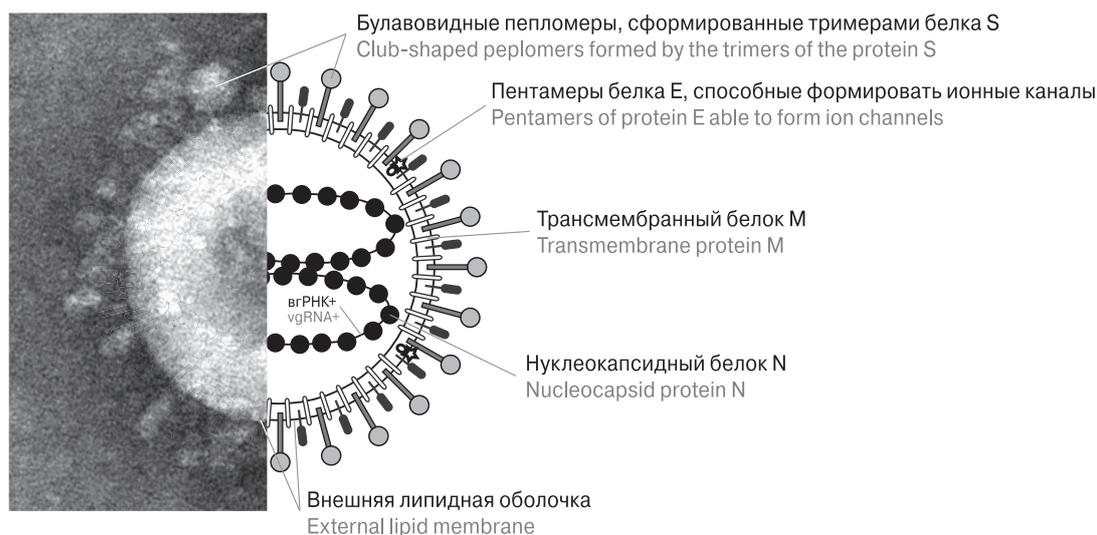
<sup>9</sup> Прежние рабочие названия 2019-nCoV, не получившие распространения: Wuhan seafood market pneumonia virus (WSMPV), Wuhan-Hu-1 (WHU-1), Wuhan coronavirus (WHCV), Pneumonia-associated respiratory syndrome-related coronavirus (PARS-CoV).

**Таблица 1. Представители семейства Coronaviridae (Nidovirales, Coronavirineae), вызывающие заболевания у человека (по [31])**  
 Table 1. Representatives of Coronaviridae family (Nidovirales, Coronavirineae) provoking human diseases (according to [31])

Подсемейство Suborder	Род Genus	Подрод Subgenus	Вид Species		Клеточный рецептор* Cell receptor*
			современное название** modern name**	аббревиатура abbreviation	
Coronavirinae	Alphacoronavirus	Duvinacovirus	Коронавирус человека 229E Human coronavirus 229E	<b>КВЧ-229E</b> HCoV-229E	<b>N-аминопептидаза (APN), или CD13</b> Aminopeptidase N (APN), or CD13
			Коронавирус человека NL63 Human coronavirus NL63	<b>КВЧ-NL63</b> HCoV-NL63	<b>Ангиотензинпревращающий фермент 2-го типа (ACE2)</b> Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)
	Betacoronavirus	Embecovirus	Бетакоронавирус 1-го типа (коронавирус человека OC43) Betacoronavirus 1 (Human coronavirus OC43)	<b>БКВ-1 (OC43)</b> BetaCoV-1 (HCoV-OC43)	<b>Молекула клеточной адгезии, ассоциированная с раково-эмбриональным антигеном, 1-го типа (CEACAM1), или CD66a</b> Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1), or CD66a
			Коронавирус человека HKU1 Human coronavirus HKU1	<b>КВЧ-HKU1</b> HCoV-HKU1	
	Betacoronavirus	Merbecovirus	Коронавирус Ближневосточного респираторного синдрома Middle East respiratory syndrome-related coronavirus	<b>КВ-БВРС</b> MERS-CoV	<b>Дипептидилпептидаза 4-го типа (DPP4), или CD26</b> Dipeptidyl peptidase 4 (DPP4), or CD26
			Коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	<b>КВ-ТОРС</b> SARS-CoV	<b>Ангиотензинпревращающий фермент 2-го типа (ACE2)</b> Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)
		<b>Sarbecovirus</b>	<b>КВ-ТОРС-2</b> SARS-CoV-2	<b>CD147</b>	

\*Указан клеточный рецептор, с которым связывается спайковый S-белок вируса; представители подрода Embecovirus имеют дополнительный структурный белок геммаглютинин-эстеразу (HE – hemagglutinin esterase), который специфически связывается с N-ацетил-9-O-ацетилнейраминной кислотой (Neu5,9Ac2 – N-acetyl-9-O-acetylneuraminic acid).

\*\*The cell receptor that binds to the spike S-protein of the virion is specified; representatives of the subgenus Embecovirus have an additional structural protein hemagglutinin-esterase (HE), which specifically binds to N-acetyl-9-o-acetylneuraminic acid (Neu5,9Ac2).



**Рисунок 1. Морфология вириона SARS-CoV-2**

Figure 1. Morphology of the virion of SARS-CoV-2

верситета (г. Шанхай) 26.12.2019 г., на 6-е сут. от начала появления клинических симптомов (температура тела 38,4°C, непродуктивный кашель, одышка, острая дыхательная недостаточность (ОДН), слабость, головокружение) [143]. Оригинальный штамм BetaCoV/Wuhan/WIV04/2019 был изолирован в Уханьском институте вирусологии Академии наук КНР на модели клеточных линий Vero E6 и Huh7 из бронхоальвеолярного смыва пациентки 49 лет, госпитализированной в Джиньинтанской инфекционной больнице (г. Ухань) 27.12.2019 г., на 5-е сут. от начала появления клинических симптомов (температура тела 37,9°C, учащенное сердцебиение) [162].

К 07.01.2020 г. накопилось достаточно данных, свидетельствующих об этиологической роли 2019-nCoV в эпидемиологической вспышке пневмонии в Ухане, что было зафиксировано в официальном сообщении ВОЗ [138]. Учитывая генетическую близость этого вируса с SARS-CoV и коронавирусом китайских подковоносов (BtRsCoV — *Rhinolophus sinicus coronavirus*), Международный Комитет по таксономии вирусов (ICTV — International Committee on Taxonomy of Viruses) переименовал 2019-nCoV в вирус острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 — Severe acute respiratory syndrome-related virus 2), объединив указанные бетакоронавирусы в отдельный подрод *Sarbecovirus* (табл. 1) [68].

Таким образом, по аналогии с SARS-CoV, новый коронавирус SARS-CoV-2 относится к чис-

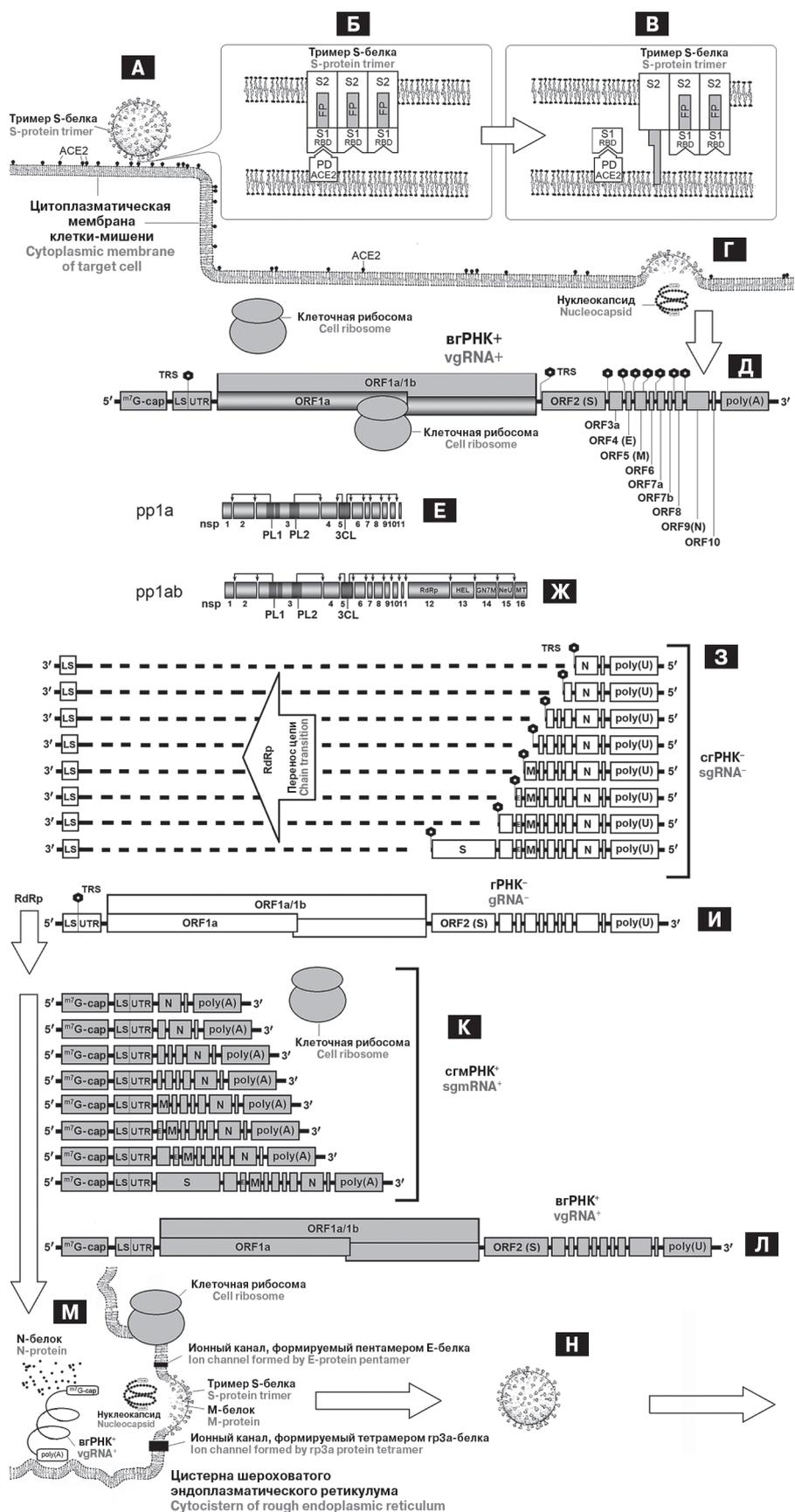
лу природно-очаговых, а его естественным резервуаром являются летучие мыши. Вероятнее всего, именно на Рыбном рынке Уханя произошла амплификация и множественное проникновение SARS-CoV-2 в человеческую популяцию. Вопрос о промежуточном хозяине между летучими мышами и человеком еще дискутируется, но имеющиеся данные свидетельствуют о том, что ими стали панголины (*Pholidota*) — своеобразные насекомоядные млекопитающие, обитающие в Центральной и Южной Африке и Южной Азии. Несмотря на то, что панголины внесены в Международную Красную книгу, они являются одним из наиболее массовых объектов нелегальной торговли в гастрономических целях и для изготовления препаратов восточной медицины [118]. Нуклеотидные последовательности, чрезвычайно близкие SARS-CoV-2, были обнаружены методом метагеномного секвенирования у яванских ящеров (*Manis javanica*) [88, 135].

*Морфология вириона SARS-CoV-2* представлена на рисунке 1. Округлая (90–140 нм)<sup>10</sup> плейоморфная вирусная частица [48, 105, 125] имеет липидную оболочку, которая происходит из мембран эндоплазматического ретикулама клетки-хозяина. В липидную оболочку погружены три структурные трансмембранные белковые структуры: тримеры гликозилированного белка S (1273 aa, 141,0 kDa)<sup>11</sup>, формирующие характерные булавовидные пепломеры<sup>12</sup> (9–12 нм); пентамеры белка E (75 aa, 8,2 kDa), которые представлены в небольшом количестве

<sup>10</sup> На электронно-микроскопических фотографиях встречаются вирусоподобные частицы диаметром 50–80 нм, но это дефектные частицы, лишённые полноценного нуклеокапсида.

<sup>11</sup> Здесь и далее приводятся расчетные значения молекулярных масс без учета посттрансляционных модификаций согласно нуклеотидной последовательности прототипного штамма SARS-CoV-2 / Wuhan-Hu-1 (GenBank ID: NC\_045512).

<sup>12</sup> Булавовидные пепломеры, образующие хорошо различимые «короновидное обрамление» на негативно-контрастированных электронно-микроскопических снимках, и дали название семейству Coronaviridae (см. подробности в [31]).



**Рисунок 2. Жизненный цикл SARS-CoV-2 (пояснения в тексте)**

Figure 2. Life cycle of SARS-CoV-2 (explanations are in the text)

(порядка 20 копий на вирион); наиболее многочисленный в составе вириона гликозилированный белок М (222 аа, 25,0 kDa) с трехзаходной  $N^{exo}C^{endo}$ -топологией. Нуклеокапсид (70 нм) имеет спиральную симметрию и формируется фосфорилированным белком N (409 аа, 45,5 kDa), который нековалентно связан с одиночным сегментом вирионной геномной РНК позитивной полярности (вРНК+) (29 903 nt).

Стандартный для всех коронавирусов [20, 31] план строения вириона SARS-CoV-2 (рис. 1) подразумевает (и это подтверждено экспериментально [72, 158]), что этот вирус не имеет особенностей по устойчивости в окружающей среде и относится к рангу И класса 3 согласно классификации Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [26]. Вирус эффективно инактивируется жирорастворяющими агентами и неионными детергентами, формальдегидом, окислителями и ультрафиолетом [15, 16, 20, 26].

*Жизненный цикл SARS-CoV-2* представлен на рисунке 2.

Проникновение SARS-CoV-2 в клетку-мишень начинается со специфического взаимодействия (рис. 2А) рецептор-связывающего домена первой субъединицы спайкового гликопротеина вируса (S1-RBD — receptor binding in S1 subunit) с пептидазным доменом (PD — peptidase domain) клеточного рецептора — ангиотензин-превращающего фермента 2-го типа (ACE2 — angiotensin-converting enzyme 2)<sup>13</sup> (рис. 2Б) [141, 148]. До прикрепления к поверхности клетки-мишени субъединицы S1 и S2 спайкового белка сарбековирусов связаны ковалентно, а после прикрепления — протеолитически расщепляются клеточной трансмембранной сериновой протеазой 2-го типа (TMPRSS2 — transmembrane protease serine 2) [73, 108]. После диссоциации комплекса S1-RBD×PD-ACE2 высвобождается ранее находившийся внутри второй субъединицы S-белка гидрофобный пептид слияния (S2-FP — fusion peptide in S2 subunit) (рис. 2В), который индуцирует слияние вирусной и клеточной мембран [130, 146], и нуклеокапсид проникает в цитоплазму клетки (рис. 2Г). У представителей подрода *Sarbecovirus* имеется дополнительный клеточный рецептор — CD147<sup>14</sup> (табл. 2) [54, 128].

Вирионная геномная РНК представляет собой односегментную молекулу РНК позитивной полярности (вРНК+), которая

<sup>m7</sup>G-кэпирована на 5'- и полиаденилирована на 3'-конце подобно клеточным мРНК, что «дезинформирует» рибосомы клетки-хозяина, и они начинают синтезировать на матрице вРНК+ два протяженных полипептида: рр1а и рр1аb (рис. 2Д). Открытые рамки считывания (ORF — Open reading frame) — ORF 1а для рр1а и ORF 1а/1b для рр1аb — одновременно стартуют с позиции 266 nt<sup>15</sup>, в то время как первые 255 nt составляют 5'-UTR (5'-terminus untranslated region — нетранслируемая область на 5'-конце). Порядка 70% рибосом успешно завершают синтез рр1а (4406 аа, 489,9 kDa), достигнув стоп-кодона UAA<sub>13483</sub> в конце ORF 1а (рис. 2Е). Однако некоторая часть рибосом, наталкиваясь в процессе трансляции вРНК+ на шпильку 13 505..13 535, сбивает рамку считывания на -1 (13 469 → 13 468) и продолжает считывать триплеты уже с позиции 13 468 (реже — с позиции 13 465), что приводит к игнорированию стоп-кодона UAA<sub>13483</sub>, продолжению считывания матрицы вдоль ORF 1а/1b и синтеза рр1аb (7096 аа, 793,9 kDa) (рис. 3).

Полипептиды рр1а и рр1аb не присутствуют в клетке в полноразмерном виде, а котрансляционно и посттрансляционно расщепляются на 11 и 16 неструктурных белков (nsp — nonstructural protein) соответственно, выполняющих регуляторную функцию: nsp1 (180 аа, 19,6 kDa) расщепляет хозяйские мРНК, ингибирует продукцию интерферонов (ИФН), блокирует клеточный цикл; nsp2 (638 аа, 70,5 kDa) преобразует складки эндоплазматического ретикулума; nsp3 (1945 аа, 217,3 kDa) является АДФ-рибоза-1'-фосфатазой и протеазой; nsp4 (500 аа, 56,2 kDa) преобразует складки эндоплазматического ретикулума; nsp5 (306 аа, 33,8 kDa) — протеиназа; nsp6 (290 аа, 33,0 kDa) преобразует складки эндоплазматического ретикулума; nsp7 (83 аа, 9,2 kDa) связывается с одноцепочечными РНК и входит в состав белкового комплекса РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp — RNA-dependent RNA-polymerase); nsp8 (198 аа, 21,9 kDa) входит в состав белкового комплекса RdRp; nsp9 (113 аа, 12,4 kDa) связывается с одноцепочечными РНК; nsp10 (139 аа, 14,8 kDa) формирует «цинковый палец»; nsp11 (13 аа, 1,3 kDa) преобразует складки эндоплазматического ретикулума; nsp12 (932 аа, 106,7 kDa) — основной белок RdRp-комплекса; nsp13 (601 аа, 66,9 kDa) является 5' → 3'геликазой (Hel — Helicase); nsp14 (527 аа, 59,8 kDa) обладает активностью 3' → 5'эк-

<sup>13</sup>ACE2 — гликозилированный мембранный белок (805 аа, 92,5 kDa), обладающий ферментативной активностью (КФ 3.4.17.23) в отношении превращений ангиотензин I → ангиотензин 1–9 и ангиотензин II → ангиотензин 1–7 [14].

<sup>14</sup>CD147 — гликозилированный иммуноглобулиноподобный мембранный белок (269 аа, 50–60 kDa), который обладает полифункциональностью и известен под различными названиями: базигин, фактор стимуляции коллагеназы опухолевых клеток (TCSF — tumor cell-derived collagenase-stimulatory factor), индуктор металлопротеиназы внеклеточного матрикса (EMMPRIN — extracellular matrix metalloproteinase inducer), эмприн [22].

<sup>15</sup>Здесь и далее используется нумерация нуклеотидов согласно сиквенсу прототипного штамма SARS-CoV-2/Wuhan-Hu-1 (GenBank ID: NC\_045512).

**Таблица 2. Открытые рамки считывания (ORF) и последовательности регуляции транскрипции (TRS) в геноме SARS-CoV-2**  
 Table 2. Open reading frames (ORF) and transcription regulation sequences (TRS) in the genome of SARS-CoV-2

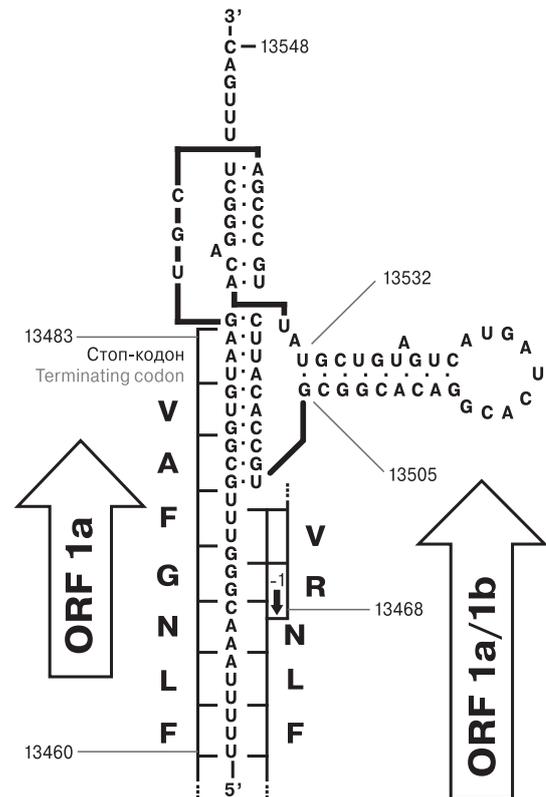
Обозначение ORF ORF designation	TRS (nt)		ORF (nt)*		Белок Protein	Длина (aa) Length (aa)	Молекулярная масса (kDa) Molecular weight (kDa)**
	начало start	конец end	начало start	конец end			
<b>ORF 1a</b> ORF 1a	70	75	266	13 483	<b>pp1a</b> pp1a	4406	489,9
<b>ORF 1a/1b</b> ORF 1a/1b	70	75	266	21 555	<b>pp1ab</b> pp1ab	7096	793,9
<b>ORF 2</b> ORF 2	21 556	21 561	21 563	25 384	<b>Спайковый белок S</b> Spike protein S	1273	141,0
<b>ORF 3a</b> ORF 3a	25 385	25 390	25 393	26 220	<b>gp3a</b> gp3a	275	31,0
<b>ORF 4</b> ORF 4	26 237	26 242	26 245	26 472	<b>Каналообразующий белок E</b> Ion channel forming protein E	75	8,2
<b>ORF 5</b> ORF 5	26 473	26 478	26 523	27 191	<b>Трансмембранный белок M</b> Transmembrane protein M	222	25,0
<b>ORF 6</b> ORF 6	27 041	27 046	27 202	27 387	<b>gp6</b> gp6	61	7,1
<b>ORF 7a</b> ORF 7	27 388	27 393	27 394	27 759	<b>gp7a</b> gp7a	121	13,6
<b>ORF 7b</b> ORF 7b	отсутствует absent		27 756	27 887	<b>gp7b</b> gp7b	43	5,1
<b>ORF 8</b> ORF 8	27 888	27 893	27 894	28 259	<b>gp8</b> gp8	121	13,7
<b>ORF 9</b> ORF 9	28 265	28 270	28 274	29 533	<b>Нуклеокапсидный белок N</b> Nucleocapsid protein N	419	45,5
<b>ORF 10</b> ORF 10	отсутствует absent		29 558	29 674	<b>gp10</b> gp10	38	4,3

\*Координаты открытой рамки считывания включают стоп-кодон. \*\*Приведены расчетные молекулярные массы без учета возможных посттрансляционных модификаций.  
 \*Coordinates of open reading frame include stop-codon. \*\*Calculated molecular weights are given without taking into account possible posttranslational modifications.

зорибонуклеазы (требуется для исправления ошибок RdRp) и гуанин-N7-метилтрансферазы (GN7M — guanine-N7-methyltransferase); nsp15 (346 aa, 38,8 kDa) — эндорибонуклеаза (NendoU, NeU, — Endoribonuclease); nsp16 (298 aa, 33,3 kDa) является 2'-О-метилтрансферазой (О-МТ — 2'-O-methyltransferase), метилирующей два первых нуклеотида после <sup>m7</sup>G-кэпа. Полипротеин pp1a и N-концевая часть pp1ab содержат три фрагмента с протеолитической активностью: папаин-подобные PL1, PL2 (PL — papain-like protease) и химотрипсин-подобный 3CL (3C-like peptidase), сайты расщепления для которых представлены на рис. 2Е–Ж.

Важную роль в реализации последующих этапов жизненного цикла вируса играет RdRp (белковый комплекс nsp7, nsp8 и nsp12), которая синтезирует на матрице вгРНК+ субгеномные РНК отрицательной полярности (сгРНК-) с разрывом цепи. Сигналом для переноса цепи является так называемая последовательность регуляции транскрипции (TRS — transcription regulation sequence), которая у SARS-CoV-2 имеет вид гексамера 5'ACGAAC3'. Всякий раз, достигая TRS (табл. 2), RdRp может либо двигаться дальше вдоль матрицы вгРНК+ (в направлении 3' → 5'), либо осуществить перенос точки синтеза к лидирующей последовательности (LS — leader sequence) в 5'UTR (рис. 23). В том случае, если RdRp пропускает первые восемь TRS и достигает TRS в позиции 70..75, то результатом синтеза становится геномная РНК негативной полярности (гРНК-) (рис. 2И). Затем RdRp, используя в качестве матрицы уже сгРНК- и гРНК-, синтезирует, соответственно, субгеномные матричные РНК позитивной полярности (сгмРНК+)<sup>16</sup> (рис. 2К) и новые вгРНК+ (рис. 2Л), которые копируются nsp14 и nsp16. Клеточные рибосомы, связанные с шероховатым эндоплазматическим ретикуломом, используя в качестве матрицы сгмРНК+, синтезируют структурные и регуляторные белки в соответствии с имеющимися ORF (табл. 2).

Структурные и регуляторные белки SARS-CoV-2 накапливаются в цистернах шероховатого эндоплазматического ретикула. Молекулы нуклеокапсидного N-белка связываются с вгРНК+ и формируют нуклеокапсиды дочерних вирионов (рис. 2М). Нуклеокапсидный белок содержит 20-членный сайт ядерной локализации (NLS — nuclear localization signal)<sub>361</sub> KTFPRPTEPKDKKKKADETQ<sub>380</sub>, который с точностью до двух аминокислотных замен, T379A и A376T, совпадает с таковым для SARS-CoV, и может приводить к проникновению N-белка и/или нуклеокапсида в ядро, что



**Рисунок 3. Структура шпильки, провоцирующей сдвиг рамки считывания ORF 1a рибосомой на -1 nt в позиции 13 469 и продолжение считывания ORF 1a/1b с позиции 13 468**

Figure 3. Structure of the hairpin provoking the frameshift for ORF 1a by the ribosome to -1 nt in position 13 469 and the continuation of reading ORF 1a/1b from position 13 468

не является обязательной стадией жизненного цикла вируса, но может играть свою роль в патогенезе [95, 107].

В отличие от большинства оболочечных вирусов, использующих цитоплазматическую мембрану клетки-хозяина, коронавирусы используют мембрану эндоплазматического ретикула (рис. 2М). При этом, молекулы S-белка тримеризуются и создают внешние пепломеры, а трансмембранный М-белок придает участку мембраны необходимую жесткость. Регуляторные белки (получаемые как в результате протеолитического расщепления pp1a и pp1ab, так и в результате трансляции сгмРНК+) встраиваются в мембрану цистерн и создают молекулярные комплексы, которые начинают менять свою конфигурацию и изгибать участки мембраны, захватывая нуклеокапсид, при возрастании содержания в цистернах ионов K<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup>. Эти катионы закачиваются внутрь цистерны двумя типами ионных каналов: пен-

<sup>16</sup> Формирование сгмРНК+ является общим элементом жизненного цикла всех представителей отряда *Nidovirales*, из-за чего он и получил свое название от лат. *nidos* (гнезда) [20].

тамерами Е-белка и тетрамерами гр3а-белка (табл. 2). Небольшие количества ионных каналов могут включаться в состав вирионов как артефакты процесса почкования. Если выпячивание мембраны цистерны не сопровождается захватом полноценного нуклеокапсида, то могут формироваться дефектные вирусные частицы. Дочерние вирионы транспортируются в просвет комплекса Гольджи и покидают хозяйскую клетку путем использования ее секреторных механизмов.

*Патогенез SARS-CoV-2 инфекции* во многом определяется наличием у клеток различных органов и тканей поверхностных рецепторов и сериновой протеазы TMPRSS2, позволяющих вирусу проникнуть в клетку-мишень. Оба рецептора для SARS-CoV-2 (ACE2 и CD147) и TMPRSS2 представлены на поверхности эпителиоцитов респираторного и пищеварительного трактов [22, 132], верхние отделы которых являются входными воротами инфекции [15, 16].

Отек слизистой оболочки носоглотки и ротоглотки может приводить к временной гипосмии и дисгевзии [82, 90, 94]. Это явление имеет место и при других ОРВИ [71, 77, 102, 120]. Однако, учитывая тропность SARS-CoV-2 к нервной ткани, нельзя исключать и проникновение вируса в обонятельные луковицы через проводящие аксоны.

Инфицируя клетки эпителия респираторного тракта, SARS-CoV-2 способен спускаться в его нижние отделы, где поражает альвеоциты (АЦ) I и II типов, эндотелиоциты и тканевые макрофаги легких (с повышенным тропизмом к АЦ-II, обогащенным ACE2) [59, 157, 159]. Диффузное альвеолярное повреждение выражается в повышении проницаемости альвеолярно-капиллярной мембраны клеток, усиленном транспорте жидкости, богатой альбумином, в интерстициальную ткань легкого и просвет альвеол, в результате чего развивается интерстициальный и альвеолярный отек, дополнительно осложненный спазмом и тромбозом мелких сосудов. Альвеолы заполняются лейкоцитами, эритроцитами и продуктами разрушенных клеток — происходит затопление альвеол, нарушение функции и продукции эндогенного сурфактанта, что приводит к коллапсу альвеол, и в результате резкого нарушения газообмена развивается острое повреждение легких (ОПЛ) и острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) [15, 16, 75, 89]. Формируются гиалиновые мембраны с высоким содержанием фибрина, которые осуществляют дополнительную барьерную функцию и препятствуют доступу кислорода к АЦ. По сути, развивается своеобразный «физико-химический пневмонит», который резко утяжеляет состояние пациента и снижает эффективность искусственной

вентиляции легких [79, 144]. В этом случае более эффективна экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО) крови [67, 74], как это рекомендовано для пациентов с ОРДС при тяжелых формах гриппа А [12], дополненная ингаляциями оксида азота [42] и/или Гелиокса [7, 97]. Перспективным препаратом для преодоления негативных последствий пневмонита может стать Перфторан [18, 25].

Инфицируя клетки альвеолярно-капиллярной мембраны, SARS-CoV-2 попадает в кровоток и может поражать органы, клетки которых содержат ACE2 и/или CD147: пищевод, кишечник, почки, мочевой пузырь, тестикулы, сердце, сосуды, мозг. РНК вируса обнаруживается в эпителиоцитах пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки и прямой кишки у пациентов с диареей и симптомами гастроэнтерита [86, 117]. SARS-CoV-2 обнаруживается в фекалиях даже после исчезновения клинических симптомов и может распространяться фекально-орально, что требует учитывать при разработке санитарно-противоэпидемических мероприятий [56, 147]. Закрепление SARS-CoV-2 в человеческой популяции может привести к появлению вирусных вариантов, высокоспециализированных по отношению к пищеварительному тракту, как это имеет место у коронавирусов животных: например, ранее считавшиеся самостоятельными TGEV и респираторный коронавирус свиней (PRCV — Porcine respiratory coronavirus) оказались патотипами одного и того же AlphaCoV1, отличающимися друг от друга делецией 227 аминокислотных остатков в N-концевой части S-белка; незначительные мутации в S-гене определяют отличия высоколетального вируса инфекционного перитонита кошек (FIPV — Feline infectious peritonitis virus) от менее патогенного коронавируса энтерита кошек (FECV — Feline enteritis coronavirus), а также высоколетального коронавируса собак 2-го типа (CCoV2 — Canine coronavirus 2) от менее патогенного CCoV1 (в настоящее время входят в состав AlphaCoV1); политропные и энтеротропные патотипы выделяются и у коронавируса мышей (MCoV — Murine coronavirus) (*Betacoronavirus, Embecovirus*), и у коронавируса хорьков (FrCoV — Ferret coronavirus) (*Alpha-coronavirus, Minacovirus*) [31].

Было показано, что SARS-CoV-2 активно реплицируется в почечных канальцах, что может являться причиной дисфункции почек и острой почечной недостаточности [53, 103].

Высокое содержание ACE2 обнаружено в тестикулах — сперматогониях, интерстициальных клетках Лейдига и сустеноцитах, которые могут выступать в качестве клеток-мишеней для SARS-CoV-2 [131].

Острая сердечная недостаточность может развиваться вследствие прямого поражения кардиомиоцитов и эндотелия крупных сосудов на фоне дыхательной недостаточности и системного воспаления [36, 41].

SARS-CoV-2 может проникать в мозг несколькими путями (вдоль обонятельного нерва уже на ранних стадиях инфекции; инфицируя эндотелиоциты гематоэнцефалического барьера; используя повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера вследствие «цитокинового шторма»), приводя к развитию геморрагической некротирующей энцефалопатии [85, 104, 145]. Следует взять под особый контроль штаммы SARS-CoV-2 от пациентов с нейродегенеративными расстройствами, поскольку на примере других коронавирусов известно, что даже незначительные мутации способны существенно повысить их нейротропность: например, пантропный коронавирус собак (PanCCoV — Pantropic canine coronavirus), который считали самостоятельным вирусом, после проведения молекулярно-генетического анализа оказался вариантом SCoV2 с единственной характерной заменой в спайковом белке S: D125N [31].

SARS-CoV-2 способен инфицировать лимфоциты, в частности — функционально важные Т-лимфоциты [130], приводя к развитию лимфопении, которая существенно осложняет заболевание и повышает риск летальности у пациентов с низким содержанием CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [160].

Патогенез тяжелых форм COVID-19 связан с полиорганной недостаточностью в результате развития «цитокинового шторма» (CSS — cytokine storm syndrome) — системной воспалительной реакции в результате неконтролируемой продукции эндогенных иммуномодуляторов [87, 152]. Начиная с ранней стадии инфекции, регуляторные вирусные белки nsр1 и грб ингибируют продукцию ИФН, а nsр1 и нуклеокапсидный белок N, проникший в ядро клетки-хозяина, блокируют клеточный цикл — в результате, резко снижается продукция ИФН инфицированными клетками [57]. Поступающие в зону воспаления макрофаги продолжают продуцировать хемоаттрактанты для мононуклеаров (в первую очередь — СС-хемокин 2-го типа (CCL2 — C-C motif ligand 2), CCL5 (он же — хемокин таксиса Т-лимфоцитов (RANTES — Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted), CCL7 и CCL12), концентрация которых быстро увеличивается. Как следствие, увеличивается концентрация продуцируемых макрофагами провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухолей альфа (TNF $\alpha$  — tumor necrosis factor), интерлейкина 1-го типа класса  $\beta$  (IL-1 $\beta$  — interleukin-1 $\beta$ ), IL-6,

IL-8 (он же — СХС-хемокин 8-го типа [CXCL8 — C-X-C motif ligand 8]). Благодаря описанной положительной обратной связи, концентрация цитокинов стремительно возрастает и выходит из-под контроля [87, 152]. Таким образом, из патогенетической картины SARS-CoV-2-инфекции следует, что ИФН-терапия COVID-19 может оказаться вполне успешной (особенно на ранних стадиях заболевания), а лечение индукторами интерферонов, напротив, малоэффективным. Кроме того, принципиальное значение имеет скорейшая разработка системы показателей на основе концентраций эндогенных иммуномодуляторов для надежного прогнозирования развития «цитокинового шторма».

*Клиническая картина COVID-19* определяется как ОРЗ с рядом возможных осложнений, наиболее опасным из которых является первичная вирусная пневмония.

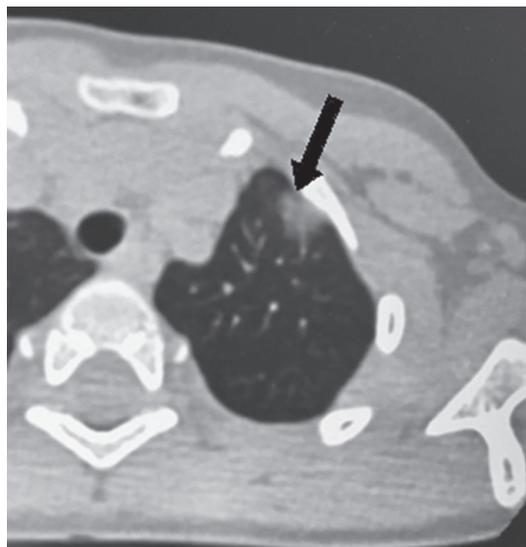
Инкубационный период при COVID-19 колеблется от 2 до 7 сут., редко удлиняется до 14 сут., о большей продолжительности инкубации убедительных данных нет.

В течении COVID-19 можно выделить следующие клинические варианты [15, 16]:

1. ОРЗ с поражением только верхних отделов респираторного тракта;
2. пневмония без ОДН;
3. пневмония с ОДН и снижением SpO<sub>2</sub> < 88% (более чем 30% пациентов);
4. ОРДС (3–4% пациентов);
5. сепсис;
6. септический (инфекционно-токсический) шок.

По степени тяжести различают легкие (80,9%), среднетяжелые (13,8%) и тяжелые (5,3%) формы COVID-19. От общего числа инфицированных более 50% составляют лица в возрасте до 45 лет, 34% — от 46 до 65 лет, 4,7% — дети [136]. Факторами риска тяжелого течения COVID-19 являются пожилой возраст; сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой системы, включая гипертоническую болезнь; заболевания легких (ХОБЛ, бронхиальная астма); сахарный диабет, метаболический синдром и другие эндокринные нарушения; иммунодефицитные состояния; злокачественные новообразования; медикаментозная иммуносупрессия, поздние стадии ВИЧ-инфекции и другие хронические декомпенсированные заболевания.

Начальный период болезни, как правило, протекает как ОРЗ, характеризуется общеинфекционным синдромом и отсутствием специфических для COVID-19 симптомов. На стадии первичных проявлений болезни отмечается недомогание, повышение температуры до субфебрильных значений, першение в горле, появляется сухой кашель, в ряде случаев — ломота в мышцах и суставах, головная боль, боль



**Рисунок 4. Компьютерная томография легкого у пациента со среднетяжелой формой COVID-19**

Figure 4. Computed tomography of the lung in a patient with a moderate form of COVID-19

Стрелкой показан округлый фокус снижения прозрачности по типу «матового стекла».

The arrow indicates a rounded focus for reducing transparency of the “frosted glass” type.

в глазных яблоках. У многих пациентов отмечается временная гипосмия и дисгевзия, однако эти симптомы не являются специфическими только для COVID-19. Боль в животе без четкой локализации, тошнота, рвота, и диарея могут быть первичными, а иногда и единственными признаками COVID-19. РНК SARS-CoV-2 может обнаруживаться в стуле пациентов, есть данные о изоляции вируса из фекалий [111, 127].

При легком течении болезни период лихорадки короткий, интоксикация выражена незначительно, клиническое выздоровление наступает примерно через 2 недели после появления симптомов.

При среднетяжелом течении температура тела повышается до 38,5–40,0°C, продолжительность периода лихорадки в среднем составляет 10–14 сут. Нарастают симптомы интоксикации, усиливается сухой или со скудной мокротой приступообразный кашель, появляются ощущение заложенности в груди, чувство нехватки воздуха (больные не могут сделать глубокий вдох), одышка. При аускультации в легких дыхание жесткое, ослабленное в нижних отделах, выслушиваются влажные мелкопузырчатые хрипы, частота дыхательных движений (ЧДД) 20–22/мин. Признаки гипоксемии, как правило, отсутствуют, насыщение крови кислородом, по данным пульсоксиметрии, составляет 93–95%. При исследовании легких с помощью компьютерной томографии (КТ) на 5–7 сут. от начала заболевания опреде-

ляются округлые фокусы снижения прозрачности по типу «матового стекла» (облаковидные инфильтраты) (рис. 4). В периферической крови в большинстве случаев выявляется лимфопения, в то время как количество других показателей соответствует референс-значениям, концентрация СРБ (С-реактивного белка) более 10 мг/л. При благоприятном течении регрессия изменений в легочной ткани отмечается к 10–12 сут. от начала болезни, однако покашливание и слабость сохраняются еще в течение 2–3 недель. В качестве примера среднетяжелой формы заболевания приводим собственное клиническое наблюдение пациента П. (см. с. 436).

Для тяжелой формы COVID-19 характерна прогрессирующая дыхательная недостаточность. Диагностическими критериями являются усиление одышки (ЧДД  $\geq 30$ /мин), гипоксия, развитие выраженной гипоксемии ( $SpO_2 < 90\%$ ,  $PaO_2/FiO_2 \leq 300$  мм рт. ст.) на 5–8 сут., нарастание в течение 24–48 ч площади повреждения легких по данным КТ (рис. 5). Наличие множественных инфильтратов в четырех и более зонах легких ( $\geq 50\%$  площади поражения) являются крайне неблагоприятным прогностическим признаком из-за развития ОПЛ/ОРДС. Больные ОРДС практически всегда рефрактерны к терапии кислородом. При осмотре выявляется цианоз, тахипноэ, тахикардия, при нарастании нарушения газообмена пациенты ажитированы, в дальнейшем — заторможены, высокий риск развития гипоксемической комы. Значительно ухудшает прогноз развитие синдрома гемодинамической нестабильности вследствие поражения миокарда, перикарда и системной сосудистой воспалительной реакции.

По мнению китайских специалистов из клиники Университета Чжэцзян, состояние, требующее искусственной вентиляции легких, относится к критическому, в котором различают раннюю, среднюю и позднюю стадии в зависимости от оксигенации и комплаенса дыхательной системы [21]:

- ранняя стадия: 100 мм рт. ст. < индекс оксигенации  $\leq 150$  мм рт. ст.; комплаенс дыхательной системы  $\geq 30$  мл/см  $H_2O$ ; отсутствие недостаточности функции других органов;
- средняя стадия: 60 мм рт. ст. < индекс оксигенации  $\leq 100$  мм рт. ст.; 30 мл/см  $H_2O$  > комплаенс дыхательной системы  $\geq 15$  мл/см  $H_2O$ , нарушение функций других органов;
- поздняя стадия: индекс оксигенации  $\leq 60$  мм рт. ст.; комплаенс дыхательной системы < 15 мл/см  $H_2O$ ; диффузная консолидация обоих легких, требующая применения ЭКМО; полиорганная недостаточность; риск летального исхода крайне высок.

Маркерами тяжелого течения являются значительные сдвиги острофазных показателей

(СРБ, ферритина, церулоплазмينا, прокальцитонина), а также коагулопатических маркеров (D-димера, МНО, АЧТВ, тромбопластина, протромбина), сывороточных ферментов (ЛДГ, КФК, АЛТ, АСТ) и других маркеров, свидетельствующих о развитии синдрома полиорганной недостаточности. Картина периферической крови характеризуется лейкопенией, которая в большинстве случаев (82%) сопровождается лимфопенией и тромбоцитопенией (36%) [21].

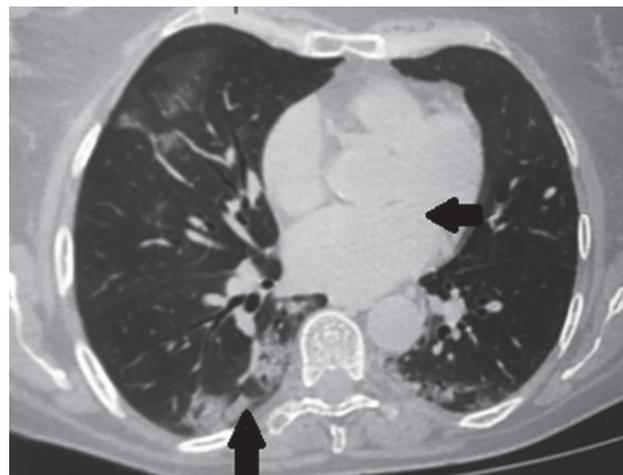
К развитию критических состояний предрасположены пожилые пациенты и лица молодого возраста, имеющие сопутствующие заболевания. Во время наблюдения за пациентами с COVID-19 необходим предельно четкий ежедневный клинический и лабораторный мониторинг для понимания течения болезни и контроля осложнений с целью своевременного принятия решения по лечебному алгоритму.

Лечение COVID-19 существенно осложняется отсутствием единого общепринятого протокола лечения различных клинических форм этого заболевания. Бурный поток публикаций как в медицинских изданиях различной степени авторитетности, так и в средствах массовой информации, подчас не брезгующих откровенным «пиаром», объясняют появление множества малодоказательных препаратов, применение которых даже в терапии «off-label» вызывает сомнения у медицинского сообщества. Тем не менее появление новых данных и их оперативный метаанализ позволяет охарактеризовать стратегию терапии с минимальным количеством ошибок. Опубликованные результаты применения ряда лекарственных препаратов не позволяют сделать однозначный вывод об их эффективности/неэффективности, в связи с чем применение таких препаратов допустимо только по решению врачебной комиссии в установленном порядке при условии, что возможная польза для пациента превысит риск.

Одними из наиболее эффективных препаратов для лечения COVID-19 на сегодняшний день считаются Хлорохин и Гидроксихлорохин, которые ранее были известны как противомаларийные препараты и обладают противовоспалительной и иммуносупрессивной активностью.

P. Colson с соавт. (2020) выдвинул предположение об эффективности Хлорохина против SARS-CoV-2, основываясь на ранее описанной способности этого химиопрепарата ингибировать в экспериментах *in vitro* репродукцию ряда коронавирусов: SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-229E, HCoV-OC43, FIPV (AlphaCoV1). M. Wang с соавт. (2020) и X. Yao с соавт. (2020) продемонстрировали активность хлорохина против SARS-CoV-2 на модели клеточной линии Vero E6.

В период эпидемии COVID-19 в Китае неоднократно представлялось описание эффек-



**Рисунок 5. Компьютерная томография легкого у пациента с тяжелой формой COVID-19**

Figure 5. Computed tomography of the lung in a patient with severe COVID-19

Стрелки указывают на фокусы снижения прозрачности по типу «матового стекла».

The arrows indicate the focus of reducing transparency of the “frosted glass” type.

тивности применения Хлорохина в дозе 500 мг 2 раза в день при отсутствии побочных реакций [65]. Авторы не обосновывают дозировку, поэтому она требует уточнения.

Фармакокинетическое моделирование и оценка сравнительной активности Хлорохина и Гидроксихлорохина в легких позволили установить более высокую эффективность второго из этих препаратов по отношению к SARS-CoV-2 [150]. Полученные данные позволили исследователям рекомендовать Хлорохин и Гидроксихлорохин для терапии COVID-19. Поскольку период выведения указанных препаратов составляет около 40 сут., то короткие курсы терапии должны обеспечить их присутствие и в более поздние сроки [123].

P. Gautret с соавт. (2020) опубликовали опыт применения Гидроксихлорохина для терапии COVID-19 в дозировке 200 мг внутрь каждые 8 ч. В исследовании участвовали 36 пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19, из которых 20 человек получали Гидроксихлорохин, а 16 составляли контрольную группу. У всех пациентов проводили оценку вирусной нагрузки в носоглоточных смывах с помощью ОТ-ПЦР в течение 6 сут. Гидроксихлорохин достоверно ( $p < 10^{-3}$ ) способствовал снижению вирусной нагрузки в носоглотке. В группе из 6 пациентов был добавлен Азитромицин, и у них снижение вирусной нагрузки была достоверно выше (6/6, 100%) по сравнению с группой, получавшей только Гидроксихлорохин (8/14, 57%). Вместе с тем, учитывая недостаточное число обследованных, отсутствие выраженной динамики

клинических результатов, потенциальную токсичность Гидроксихлорохина и Азитромицина, необходимо критически воспринимать предварительные результаты этой комбинированной терапии.

*Нитазоксанид* первоначально применялся в качестве антипаразитарного препарата [44], но впоследствии было показано, что он эффективен против широкого спектра вирусов, включая коронавирусы [64, 110], включая SARS-CoV-2 [129]. Что касается терапевтической эффективности нитазоксанида в отношении COVID-19, то она нуждается в дальнейшей верификации.

*Ивермектин* — еще один антипаразитарный препарат<sup>17</sup>, обладающий широкой противовирусной активностью, в том числе — в отношении SARS-CoV-2. Сначала была обнаружена активность Ивермектина против HIV-1 [126]. Позже выяснилось, что этот препарат обладает гораздо более широкой противовирусной активностью [126, 149]. Эффективность Ивермектина в отношении SARS-CoV-2 была показана в экспериментах *in vitro* [47], причем действие Ивермектина может быть синергично усилено сочетанным применением с Гидроксихлорохином [101]. Результаты клинических исследований данного препарата при COVID-19 в научной литературе пока отсутствуют.

Согласно ранним публикациям большие надежды возлагались на ингибиторы протеаз вирусов иммунодефицита человека (HIV — human immunodeficiency virus) 1-го и 2-го типов (*Ortervirales: Retroviridae, Lentivirus*) — *Лопинавир* и *Ритонавир*, входящие в состав комбинированного препарата Калетра®.

Лопинавир в дозе 4 мг/мл показал свою эффективность против SARS-CoV в сочетании с Рибавирином в дозе 50 мг/мл [58]. Убедительное снижение летальности при SARS-CoV и MERS-CoV привели к включению Лопинавира/Ритонавира в Национальные клинические рекомендации КНР по лечению COVID-19 в дозе 400 мг/100 мг 2 раза в день курсом продолжительностью не более 10 сут. [98].

В работе [154] представлены результаты лечения Лопинавиром/Ритонавиром 18 пациентов с COVID-19: пять из них получали монотерапию Лопинавиром; у 3 (60%) из них после начала лечения наблюдалось снижение потребности в кислороде; у 2 (40%) отмечалось ухудшение состояния с развитием ОДН; у 2 (40%) наблюдалось снижение вирусной нагрузки на фоне лечения; у 4 (80%) имелись побочные реакции. Однако такие данные не дают истинной оценки эффективности терапии.

В обширном рандомизированном исследовании эффективности Лопинавира/Ритонавира участвовали 199 пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19: первая группа (n = 99) получала Лопинавир/Ритонавир 400/100 мг 2 раза в день; вторая группа (n = 100) получала стандартное лечение пациентов с пневмонией, — не выявлено никакой статистически значимой разницы между группами лечения в снижении вирусной нагрузки [49].

Учитывая имеющиеся данные, трудно оценить, играет ли Лопинавир/Ритонавир заметную роль в лечении COVID-19 как в монотерапии, так и в комбинации. При использовании препарата необходимо проводить скрининг лекарственных взаимодействий, оценку побочных явлений, в том числе — гепатотоксичность, учитывая повышенный уровень АСТ/АЛТ у пациентов с COVID-19. Кроме того, доступная литература не содержит данных по исследованию активности Лопинавира против SARS-CoV-2 в экспериментах *in vitro*.

*Камостат-мезилат* является ингибитором TMPRSS2, осуществляющей протеолиз спайкового белка на две субъединицы, что необходимо для проникновения вируса в клетку-мишень. Этот препарат до сих пор использовался в клинической практике при хроническом панкреатите и послеоперационном рефлюкс-эзофагите. Однако в экспериментах *in vitro* показано, что Камостат-мезилат проявляет активность против SARS-CoV [80] и SARS-CoV-2 [73]. Результаты клинических исследований Камостат-мезилата при COVID-19 еще не опубликованы.

В настоящее время доклинические испытания в КНР и в США проходит перспективный препарат, разработанный компанией Gilead Sciences, Inc., — *Ремдесивир* (GS-5734), который представляет собой аналог аденозина, ингибирующий RdRp. Этот препарат создавался в период вспышки лихорадки Эбола в Западной Африке (2014–2016 гг.), этиологически связанной в эболавирусом Заир (ZEBOV — Zaire Ebolavirus) (*Mononegavirales: Filoviridae, Ebolavirus*) [33, 34]. Ремдесивир обладает высокой селективностью по отношению к вирусным RdRp и, как ожидается, будет малотоксичным для человека [37, 116].

Показано, что в экспериментах *in vitro* Ремдесивир проявляет способность ингибировать репродукцию SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-229E, HCoV-OC43, дельтакоронавируса свиней (PDCoV — Porcine deltacoronavirus) (*Deltacoronavirus, Buldecovirus*) [46, 58, 114, 115] и SARS-CoV-2 [129].

<sup>17</sup> За открытие Ивермектина и продвижение его в медицинскую практику Уильям Кэмпбелл и Сатоси Омура получили Нобелевскую премию в области физиологии и медицины (2015 г.).

Терапевтическая эффективность Ремдесивира впервые была показана на модели макака-резус (*Macaca mulatta*), инфицированных ZEBOV: однократное ежедневное применение приводило к подавлению репликации вируса и защите от летального исхода заболевания [133].

Американские исследователи отмечают отсутствие летальности в группе пациентов с COVID-19 и побочные реакции в виде диареи, тошноты, рвоты, повышении уровня аминотрансфераз [124]. Рекомендованная доза для лечения COVID-19 составляет 200 мг внутривенно на 1-е сут. с последующим введением 100 мг внутривенно ежедневно в течение 10 сут.

*Рибавирин*, аналог гуанозина, который ингибирует RdRp, был впервые одобрен в 1980-х гг. и клинически применялся при инфекциях, связанных с респираторно-синцитиальным вирусом человека (HRSV — Human respiratory syncytial virus) (*Mononegavirales: Pneumoviridae, Orthopneumovirus*) [19], вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки (СCHFV — Crimean-Congo hemorrhagic fever virus) (*Bunyavirales: Nairoviridae, Orthonairovirus*) [1] и, в комбинации с интерфероном, вирусом гепатита С (HCV — Hepatitis C virus) (*Flaviviridae, Hepacivirus*) [20]. Препарат был испытан для лечения SARS-CoV в комбинации с кортикостероидами и/или интерфероном при отсутствии других вариантов лечения, однако результаты были либо неудовлетворительными, либо неопределенными [45, 83]. М. Wang с соавт. (2020) оценили активность Рибавирина *in vitro* в отношении SARS-CoV-2 и обнаружили, что она более, чем в 100 раз меньше по сравнению с Ремдесивиром. При этом, риск развития побочных эффектов (гематологической токсичности, анемии и гипоксемии) может превышать положительный клинический эффект. Поэтому, несмотря на то что ВОЗ и Минздрав России в феврале 2020 г. включили Рибавирин в список препаратов, которые могут быть эффективны для лечения COVID-19, уже начиная с 4-го издания, во «Временных методических рекомендациях...» Минздрава России, Рибавирин отсутствует [15].

*Тоцилизумаб* — это препарат, содержащий гуманизированные моноклональные антитела против рецепторов интерлейкина-6 (IL-6R — interleukin 6 receptor).

IL-6, секретируемый моноцитами и макрофагами, является одним из основных факторов иммунологического ответа и симптомов у пациентов с CSS. Тоцилизумаб был впервые одобрен FDA в 2010 г. для лечения ревматоидного артрита [81]. При тяжелом течении COVID-19 также развивается CSS, приводящий к резкому усилению выброса провоспалительных цитокинов, включая IL-6. Терапия тоцили-

зумабом указана в качестве варианта лечения тяжелых или критических случаев COVID-19 с повышенным уровнем IL-6 в Национальных клинических рекомендациях КНР по лечению COVID-19 [98]. Рекомендованная доза составляет 4–8 мг/кг или 400 мг внутривенно однократно с возможностью повторения дозы через 12 ч (не более 800 мг/сут.). Имеются первые сообщения о положительном клиническом опыте применения Тоцилизумаба для лечения COVID-19 [50, 62, 91, 156], хотя оптимальные сроки введения Тоцилизумаба и критический порог IL-6 еще не определены.

*Анакинра*, представляющий собой искусственно синтезируемый антагонист рецептора IL-1 (IL-1RA — interleukin 1 receptor antagonist), хорошо зарекомендовал себя для лечения ревматоидного артрита. При постоянной внутривенной инфузии Анакинра способен гасить «цитокиновый шторм» [35] и потому имеет очевидные перспективы для терапии тяжелых случаев COVID-19 [61].

Активно обсуждается применение кортикостероидов при лечении COVID-19 по аналогии с лечением тяжелых форм ОРЗ. Многочисленные научные обзоры не выявляют заметного влияния кортикостероидов на исходы первичных коронавирусных пневмоний [119]. Однако некоторые авторы показывают снижение смертности у критически больных пациентов [52]. Последние данные по COVID-19 также свидетельствуют о снижении смертности у пациентов с ОРДС, принимающих кортикостероиды: 23/50 (46%) vs. 21/34 (62%) [142].

*Интерфероны  $\alpha$  и  $\beta$* , играющие ключевую роль в активации системы противовирусной защиты, могут быть эффективны против SARS-CoV-2, особенно на ранних этапах инфекции, когда происходит подавление продукции IFN $\alpha$ 2b [57, 152]. Во «Временных методических рекомендациях...» Минздрава РФ [15] в перечне терапевтических препаратов при COVID-19 представлены IFN $\alpha$ 2b и IFN $\beta$ 1b. Однако следует помнить о том, что токсичность интерферонотерапии является существенной, включая тяжелые цитопении, гепатоксичность (вплоть до летальной), нервно-психические изменения и риск развития тяжелой или летальной ишемии. ИФН могут быть полезны в качестве вспомогательного средства (хотя комбинация ИФН с Рибавирином не повышает эффективность терапии [39]), но представляют значительный риск для тяжелобольных пациентов и должны применяться под строгим контролем уровня цитокинов [113]. Вместе с тем разработка новых подходов к интерферонотерапии COVID-19 должна быть продолжена. В частности, перспективным направлением представляется использование IFN $\lambda$  [100, 106].

*Пассивная иммунотерапия* с использованием плазмы крови реконвалесцентов (пациентов, переболевших COVID-19) широко используется для терапии ОРЗ [2, 78, 109, 161], включая SARS [55, 119, 153]. Эффективность этого подхода была продемонстрирована и при COVID-19 [38, 121, 122, 151]. Плазма реконвалесцентов не предназначена для профилактики инфекционного заболевания и применяется исключительно в терапевтических целях. Пассивная иммунотерапия проводится с согласия пациента или родственников при угрожающих жизни состояниях (нарастающая одышка и остановка дыхания, септический шок и/или полиорганная недостаточность, ОРДС). Плазма должна забираться только от реконвалесцентов COVID-19 при условии полного прекращения симптомов по меньшей мере за 14 сут. до сдачи крови и соответствия требованиям к донорам крови. Должно выполняться определение титра нейтрализующих SARS-CoV-2 антител (оптимально — выше 1:320) [98].

*В заключение*, необходимо признать, что человечество недостаточно серьезно отнеслось и к первому звонку, прозвучавшему в 2002–2003 гг. во время эпидемии, вызванной SARS-CoV, и ко второму звонку, когда в 2012 г. был открыт MERS-CoV, «тлеющие» природные очаги которого периодически вспыхивают: мониторинг вирусов, связанных с летучими мышами, был развернут далеко не повсеместно; сравнительный анализ патогенеза SARS-CoV- и MERS-CoV-инфекций с коронавирусными инфекциями животных с должной детализацией не осуществлен; согласованные протоколы лечения SARS и MERS не разработаны; вакцины против SARS-CoV и MERS-CoV натуральных испытаний не прошли, и научно-обоснованные предположения об эффективности будущих вакцин против SARS-CoV-2 на сегодняшний день отсутствуют; резервные мощности для производства новых вакцин в масштабах планеты развернуты не были; надежные международные институты<sup>18</sup>, способные координировать противоэпидемические мероприятия в условиях чрезвычайной ситуации, невзирая на существующие противоречия между отдельными странами, не созданы. И лишь когда после третьего звонка в декабре 2019 г. начала разворачиваться драма эпидемических событий, связанных с SARS-CoV-2, переросших в пандемию, человечество повернулось лицом к проблеме. Вспомнит ли оно, что выражение «Si vis pacem, para bellum»<sup>19</sup> относится не только к сфере международных отношений?

### Клинический пример

Пациент П., 44 года, госпитализирован в ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы» на 7 сут. болезни.

В анамнезе артериальная гипертензия; имел контакт с больным COVID-19. Заболел остро 01.04.2020 г., когда появилось недомогание, слабость, озноб, температура тела повысилась до 38,0–39,0°C, сухой кашель, отмечал потерю обоняния. В последующие дни температура тела оставалась высокой, усилился кашель. При поступлении состояние средней тяжести. Лицо гиперемировано. Тоны сердца приглушены, ритмичные. ЧСС 88/мин. АД 150/80 мм рт. ст. В легких дыхание ослаблено, в нижних отделах с обеих сторон, выслушиваются мелкопузырчатые влажные хрипы. ЧДД 20/мин, SpO<sub>2</sub> 87%.

Протокол КТ-исследования № 1012 от 07.04.2020 г. (7 день болезни): S1+2 левого, S2, S4, S6 правого легкого определяют округлые разнокалиберные фокусы снижения прозрачности по типу «матового стекла», с утолщением междолькового и внутридолькового интерстиция. Проподимость бронхиального дерева сохранена. Органы средостения дифференцируются, не смещены. Сердце расширено левыми отделами, аорта без изменений. Листки перикарда не утолщены. Плевральные полости свободны. Внутригрудные лимфатические узлы не увеличены. Подмышечные лимфатические узлы не увеличены. Костно-деструктивных изменений не выявлено. Заключение: двусторонние интерстициальные изменения (облаковидные инфильтраты).

Назальный смыв от 07.04.2020 г. положителен по данным ОТ-ПЦР для индикации SARS-CoV-2.

По газам крови и кислотно-щелочному статусу от 07.04.2020 г. — компенсирован.

Анализ крови от 08.04.2020 г.: лейкоциты  $8,6 \times 10^9$ /л; эритроциты  $5,52 \times 10^{12}$ /л; гемоглобин 163 г/л; гематокрит 48,4%; тромбоциты  $233 \times 10^3$ /мкл; нейтрофилы: палочкоядерные 3%, сегментоядерные 73%, лимфоциты 13%, моноциты 10%, эозинофилы 1%, СОЭ 6 мм/ч. В биохимическом исследовании крови показатели холестерина, белка и белковых фракций, трансаминаз, билирубина в норме; уровень глюкозы повышен — 7,5 мМ.

На ЭКГ от 09.04.2020 г. ритм синусовый, отклонение электрической оси влево, нарушения проводимости нет.

Лечение: Калетра 500 мг внутрь 2 раза в день, Гидроксихлорин 200 мг внутрь 2 раза

<sup>18</sup> Всемирная организация здравоохранения хорошо зарекомендовала себя в условиях действующего международного консенсуса. При наличии противоречий между странами ее мандат недостаточен. Возможно, в ситуацию следовало бы вмешаться Совету безопасности ООН, но этому должна предшествовать серьезная работа по разработке и имплементации соответствующих протоколов.

<sup>19</sup> Хочешь мира — готовься к войне.

в день, Азитромицин 500 мг внутрь 2 раз в день, Флуимуцил 600 мг внутрь 1 раз в день.

На фоне проводимой терапии состояние больного улучшилось, температура нормализовалась на 8 сут. от появления симптомов, сохраняется небольшой кашель.

КТ от 13.04.2020 г.: КТ-картина без существенных изменений, новые очаги снижения прозрач-

ности по типу «матового стекла» не отмечены. Заключение: КТ-картина течения двусторонней интерстициальной пневмонии (по типу COVID-19).

Иммунохимический анализ крови (экспресс-тест) от 13.04.2020 г.: обнаружены анти-COVID-19 IgM и анти-COVID-19 IgG.

На момент составления клинического примера пациент оставался под наблюдением.

## Список литературы/References

1. Аристова В.А., Колобухина Л.В., Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Экология вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и особенности клиники на территории России и сопредельных стран // Вопросы вирусологии. 2001. Т. 46, № 4. С. 7–15. [Aristova V.A., Kolobukhina L.V., Shchelkanov M.Yu., Lvov D.K. Ecology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus and clinical picture of the disease in Russia and its neighboring countries. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, Russian Journal*, 2001, vol. 46, no. 4, pp. 7–15. (In Russ.)]
2. Борисевич И.В., Кудашева Э.Ю., Иванов В.Б., Лебединская Е.В. Препараты иммуноглобулинов человека специфические для лечения и профилактики инфекционных заболеваний // Иммунология. 2017. Т. 38, № 6. С. 320–326. [Borisevich I.V., Kudasheva E.Yu., Ivanov V.B., Lebedinskaya E.V. Specific human immunoglobulin preparations for treatment and prevention of infectious diseases. *Immunologiya = Immunology*, 2017, vol. 38, no. 6, pp. 320–326. (In Russ.)]
3. Бреслав Н.В., Шевченко Е.С., Абрамов Д.Д., Прилипов А.Г., Журавлева М.М., Оскерко Т.А., Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Львов Д.К. Эффективность применения антинейраминидазных химиопрепаратов во время пандемии гриппа и в постпандемический период // Вопросы вирусологии. 2013. Т. 58, № 1. С. 28–32. [Breslav N.V., Shevchenko E.S., Abramov D.D., Prilipov A.G., Zhuravleva M.M., Oskerko T.A., Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Lvov D.K. Efficacy of anti-neuraminidase drugs application during and after influenza pandemic. *Voprosy Virusologii = Problems of Virology, Russian Journal*, 2013, vol. 58, no. 1, pp. 28–32. (In Russ.)]
4. Бурцева Е.И., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Прилипов А.Г., Альховский С.В., Лаврищева В.В., Шевченко Е.С., Федякина И.Т., Иванова В.Т., Белякова Н.В., Прошина Е.С., Абрамов Д.Д., Трушаклова С.В., Меркулова Л.Н., Вартанян Р.В., Кистенева Л.Б., Самохвалов Е.И., Оскерко Т.А., Феодоритова Е.Л., Силуянова Э.В., Мукашева Е.А., Беляев А.Л., Маликов В.Е., Малышев Н.А. Особенности циркуляции вирусов гриппа в постпандемический период 2010–2011 гг. по итогам деятельности Центра экологии и эпидемиологии гриппа ФГУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздравсоцразвития России // Вопросы вирусологии. 2012. Т. 57, № 1. С. 20–28. [Burtseva E.I., Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Prilipov A.G., Alkhovsky S.V., Lavrishcheva V.V., Shevchenko E.S., Fedyakina I.T., Ivanova V.T., Belyakova N.V., Proshina E.S., Abramov D.D., Trushakova S.V., Merkulova L.N., Vartanyan R.V., Kisteneva L.B., Samokhvalov E.I., Oskerko T.A., Feodoritova E.L., Siluyanov E.V., Mukasheva E.A., Belyaev A.L., Malikov V.E., Malyshev N.A. The specific features of cocirculation of influenza viruses in 2010–2011 postpandemic period according to the results of activities of the D.I. Ivanovsky Research Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of Russia. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, Russian Journal*, 2012, vol. 57, no. 1, pp. 20–28. (In Russ.)]
5. Колобухина Л.В., Малышев Н.А., Меркулова Л.Н., Бурцева Е.И., Щелканов М.Ю. Изучение эффективности и безопасности нового противовирусного препарата Ингавирин при лечении больных гриппом // Российский медицинский журнал. 2008. Т. 16, № 22. С. 1502–1506. [Kolobukhina L.V., Malyshev N.A., Merkulova L.N., Burtseva E.I., Shchelkanov M.Yu. Investigation of efficiency and safety of new antiviral compound Ingavirin® for the treatment of patients with influenza. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 2008, vol. 16, no. 22, pp. 1502–1506. (In Russ.)]
6. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Лаврищева В.В., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Прилипов А.Г., Прошина Е.С., Авдеев С.Н., Суточникова О.А., Базарова М.В., Келли Е.И., Цуракулова Н.Д., Бланк И.А., Шестакова О.М., Коливашко О.Н., Арсенева Т.В., Амброси О.Е., Шульдяков А.А., Попов А.Ф., Симакова А.И., Малышев Н.А., Чучалин А.Г., Львов Д.К. Пандемический грипп в России: отличительные особенности клинического течения и отсутствие ранней этиотропной терапии как фактор риска развития тяжелых форм заболевания // Терапевтический архив. 2011. Т. 83, № 9. С. 48–53. [Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Lavrishcheva V.V., Samokhvalov E.I., Alkhovsky S.V., Prilipov A.G., Proshina E.S., Avdeev S.N., Sutochnikova O.A., Bazarova M.V., Kelly E.I., Tsurukalova N.D., Blank I.A., Shestakova O.M., Kolivashko O.N., Arseneva T.V., Ambrosi O.E., Shuldyakov A.A., Popov A.F., Simakova A.I., Malyshev N.A., Chuchalin A.G., Lvov D.K. Pandemic influenza in Russia: specific features of clinical course and the absence of early etiotropic therapy as a risk factor of severe forms of the disease. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*, 2011, vol. 83, no. 9, pp. 48–53. (In Russ.)]
7. Красновский А.Л., Григорьев С.П., Лошкарева Е.О., Золкина И.В. Использование Гелиокса в лечении больных с бронхолегочной патологией // Российский медицинский журнал. 2012. № 5. С. 46–51. [Krasnovskii A.L., Grigor'ev S.P., Alekhin A.I., Potarov V.N. Application of heated oxygen-helium mixture for combined treatment of community-acquired pneumonia. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 2013, vol. 91, no. 5, pp. 38–41. (In Russ.)]
8. Лаврищева В.В., Бурцева Е.И., Хомяков Ю.Н., Шевченко Е.С., Оскерко Т.А., Иванова С.М., Данилевская М.М., Щелканов М.Ю., Федякина И.Т., Альховский С.В., Прилипов А.Г., Журавлева М.В., Колобухина Л.В., Малышев Н.А., Львов Д.К. Этиология летальных пневмоний в период развития пандемии, вызванной вирусом гриппа А (H1N1) pdm09 в России // Вопросы вирусологии. 2013. Т. 58, № 3. С. 17–21. [Lavrisheva V.V., Burtseva E.I., Khomyakov Yu.N., Shevchenko E.S., Oskerko T.A., Ivanova S.M., Danilevskaya M.M., Shchelkanov M.Yu., Fedyakina I.T., Alkhovsky S.V., Prilipov A.G., Zhuravleva M.V., Kolobukhina L.V., Malyshev N.A., Lvov D.K. Etiology of fatal pneumonia cause by influenza A (H1N1) pdm09 virus during the pandemic in Russia. *Voprosy Virusologii = Problems of Virology, Russian Journal*, 2013, vol. 58, no. 3, pp. 17–21. (In Russ.)]

9. Логинова С.Я., Шукина В.Н., Борисевич С.В., Бондарев В.П., Маркушин С.Г., Кривцов Г.Г., Михайлова Н.А., Гендон Ю.З. Изучение иммуногенности и протективной эффективности новой инактивированной вакцины с хитозаном в отношении гриппа А/Н1N1/2009 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2012. № 2. С. 51–54. [Loginova S.Ya., Schukina V.N., Borisevich S.V., Bondarev V.P., Markushin S.G., Krivtsov G.G., Mikhaylova N.A., Ghendon Yu.Z. Study of immunogenicity and protective efficacy of a novel inactivated vaccine with chitosan against influenza A/H1N1/2009. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2012, no. 2, pp. 51–54. (In Russ.)]
10. Львов Д.К., Альховский С.В., Колобухина Л.В., Бурцева Е.И. Этиология эпидемической вспышки COVID-19 в г. Ухань (провинция Хубэй, Китайская Народная Республика), ассоциированной с вирусом 2019-nCoV (Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, подрод Sarbecovirus): уроки эпидемии SARS-CoV // Вопросы вирусологии. 2020. Т. 65, № 1. С. 6–15. [Lvov D.K., Alkhovsky S.V., Kolobukhina L.V., Burtseva E.I. Etiology of epidemic outbreaks COVID-19 in Wuhan, Hubei province, Chinese People Republic associated with 2019-nCoV (Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, Subgenus Sarbecovirus): lessons of SARS-CoV outbreak. *Voprosy virusologii = Problems in Virology*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 6–15. (In Russ.)]
11. Львов Д.К., Бурцева Е.И., Щелканов М.Ю., Прилипов А.Г., Колобухина Л.В., Малышев Н.А., Базарова М.В., Меркулова Л.Н., Дерябин П.Г., Кузьмичев А.Г., Федякина И.Т., Гребенникова Т.В., Усачев Е.В., Садыкова Г.К., Шевченко Е.С., Трушаква С.В., Лаврищева В.В., Альховский С.В., Самохвалов Е.И., Белякова Н.В., Иванова В.Т., Оскерко Т.А., Латышев О.Е., Беляев А.М., Беляев А.Л., Феодоритова Е.Л. Распространение нового пандемического вируса гриппа А (H1N1) v в России // Вопросы вирусологии. 2010. Т. 55, № 3. С. 4–9. [Lvov D.K., Burtseva E.I., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Kolobukhina L.V., Malyshev N.A., Bazarova M.V., Merkulova L.N., Deryabin P.G., Kuzmichev A.G., Fedyakina I.T., Grebennikova T.V., Usachev E.V., Sadykova G.K., Shevchenko E.S., Trushakova S.V., Lavrishcheva V.V., Alkhovsky S.V., Samokhvalov E.I., Belyakova N.V., Ivanova V.T., Oskerko T.A., Latyshev O.E., Belyaev A.M., Beliaev A.L., Feodoritova E.L. Spread of new pandemic influenza A (H1N1) v virus in Russia. *Voprosy virusologii = Voprosy Virusologii*, 2010, vol. 55, no. 3, pp. 4–9. (In Russ.)]
12. Львов Д.К., Чучалин А.Г., Малышев Н.А., Колобухина Л.В., Авдеев С.Н., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Базарова М.В., Суточникова О.А. Грипп: клинико-эпидемиологические особенности в постпандемический период и современные возможности эффективной терапии, включая тяжелые формы. Методические рекомендации (№ 39). М.: Правительство Москвы, Департамент здравоохранения г. Москвы, 2014. 26 с. [Lvov D.K., Chuchalin A.G., Malyshev N.A., Kolobukhina L.V., Avdeev S.N., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Bazarova M.V., Sutochnikova O.A. Influenza: clinical and epidemiological peculiarities during post-pandemic period and modern potential of effective therapy including severe forms. *Methodological recommendations (N 39)*. Moscow: Government of Moscow, Department of Public Health of Moscow, 2014. 26 p.]
13. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Бовин Н.В., Малышев Н.А., Чучалин А.Г., Колобухина Л.В., Прилипов А.Г., Богданова В.С., Альховский С.В., Самохвалов Е.И., Федякина И.Т., Бурцева Е.И., Дерябин П.Г., Журавлева М.М., Шевченко Е.С., Лаврищева В.В., Львов Д.Н., Прошина Е.С., Стариков Н.С., Морозова Т.Н., Базарова М.В., Григорьева Т.А., Кириллов И.М., Шидловская Е.В., Келли Е.И., Маликов В.Е., Яшкулов К.Б., Ананьев В.Ю., Баранов Н.И., Гореликов В.Н., Цой О.В., Гарбуз Ю.А., Резник В.И., Иванов Л.И., Феделеш И.Ю., Пономаренко Р.А., Сахарова Е.А., Лебедев Г.Б., Маслов А.И. Корреляция между рецепторной специфичностью штаммов пандемического вируса гриппа А (H1N1) pdm09, изолированных в 2009–2011 гг., структурой рецептор-связывающего сайта и вероятностью развития летальной первичной вирусной пневмонии // Вопросы вирусологии. 2012. Т. 57, № 1. С. 14–20. [Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Bovin N.V., Malyshev N.A., Chuchalin A.G., Kolobukhina L.V., Prilipov A.G., Bogdanova V.S., Alkhovsky S.V., Samokhvalov E.I., Fedyakina I.T., Burtseva E.I., Deryabin P.G., Zhuravleva M.M., Shevchenko E.S., Lavrishcheva V.V., Lvov D.N., Proshina E.S., Starikov N.S., Morozova T.N., Bazarova M.V., Grigorieva T.A., Kirillov I.M., Shidlovskaya E.V., Kelly E.I., Malikov V.E., Yashkulov K.B., Ananiev V.Yu., Baranov N.I., Gorelikov V.N., Tsoi O.V., Garbuz Yu.A., Reznik V.I., Ivanov L.I., Fedelech I.Yu., Ponomarenko R.A., Sakharova E.A., Lebedev G.B., Maslov A.I. Correlation between the receptor specificities of pandemic influenza A (H1N1) pdm09 virus strains isolated in 2009–2011 and the structure of the receptor-binding site and the probabilities of fatal primary virus pneumonia. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, Russian Journal*, 2012, vol. 57, no. 1, pp. 14–20. (In Russ.)]
14. Медведев А.Е. Ангиотензин-превращающий фермент-2 и коллектрин — недавно обнаруженные гомологи ангиотензин-превращающего фермента // Биомедицинская химия. 2003. Т. 49, № 1. С. 8–9. [Medvedev A.E. Angiotensin-converting enzyme-2 and collectrin — recently discovered homologs of angiotensin-transforming enzyme. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomeditsinskaya Khimiya*, 2003, vol. 49, no. 1, pp. 8–9. (In Russ.)]
15. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации (версия от 08.04.2020). М.: МЗ РФ, 2020. 122 с. [Ministry of Public Health of Russian Federation. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Temporary guidelines (version from 08.04.2020). Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation, 2020. 122 p.]
16. Никифоров В.В., Колобухина Л.В., Сметанина С.В., Мазанкова Л.Н., Плавун Н.Ф., Щелканов М.Ю., Суранова Т.Г., Шахмарданов М.З., Бургасова О.А., Кардонова Е.В., Базарова М.В., Антипьят Н.А., Серова М.А., Орлова Н.В., Забозлаев Ф.Г., Кружкова И.С., Кадышев В.А. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. Учебно-методическое пособие. М.: Департамент здравоохранения города Москвы, 2020. 71 с. [Nikiforov V.V., Kolobukhina L.V., Smetanina S.V., Mazankova L.N., Plavunov N.F., Shchelkanov M.Yu., Suranova T.G., Shakhmardanov M.Z., Burgasova O.A., Kardonova E.V., Bazarova M.V., Antipyat N.A., Serova M.A., Orlova N.V., Zabozaev F.G., Kruzhkova I.S., Kadyshev V.A. Novel coronavirus infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinics, diagnostics, treatment, and prophylaxis. Educational and methodological guide. Moscow: Department of Public Health of Moscow City, 2020. 71 p.]
17. Онищенко Г.Г., Малеев В.В., Чучалин А.Г., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Курганова О.П., Перепелица А.А., Павлова И.И., Бурдинская Е.Н. О профилактических мероприятиях по стабилизации заболеваемости гриппом, ОРВИ и внебольничными пневмониями в Амурской области в постпандемический период // Проблемы особо опасных инфекций. 2014. № 1. С. 60–63. [Onishchenko G.G., Maleev V.V., Chuchalin A.G., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Kurganova O.P., Perepelitsa A.A., Pavlova I.I., Burdinskaya E.N. Concerning preventive activities providing control over morbidity rates in refer-

- ence to flue, ARVI, and community-acquired pneumonia in the Amur region in the post-flooding period. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2014, no. 1, pp. 60–63. (In Russ.).
18. Папуашвили М.Н., Шелканов М.Ю. Изучение дезинтоксикационных свойств Перфторана в комплексе со специфической противовирусной терапией ВИЧ-инфекции // Гематология и трансфузиология. 2003. Т. 48, № 6. С. 15–19. [Papuashvili M.N., Shchelkanov M.Yu. Investigation of Perftoran-based desintoxication during anti-retroviral therapy of HIV-infected patients. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*, 2003, vol. 48, no. 6, pp. 15–19. (In Russ.)]
  19. Пульмонология. Национальное руководство. Ред. А.Г. Чучалин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 800 с. [Pulmonology. National guide. Ed. A.G. Chuchalin. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 800 p. (In Russ.)]
  20. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Ред. Львов Д.К. М.: МИА, 2013. 1200 с. [Handbook of virology. Viruses and viral infections of humans and animals. Ed.: Lvov D.K. Moscow: Medical Information Agency, 2013. 1200 p. (In Russ.)]
  21. Справочник по профилактике и лечению COVID-19. Под ред. Т. Лян. Ханчжоу: Изд-во Чжэцзянского университета, 2020. 68 с. [Handbook of COVID-19 prevention and treatment. Ed.: Liang T. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2020. 68 p. (In Russ.)]
  22. Успенская Ю.А., Комлева Ю.К., Горина Я.В., Пожиленкова Е.А., Белова О.А., Салмина А.Б. Полифункциональность CD147 и новые возможности для диагностики и терапии // Сибирское медицинское обозрение. 2018. № 4. С. 22–30. [Uspenskaya Yu.A., Komleva Yu.K., Gorina Y.V., Pozhilenkova E.A., Belova O.A., Salmina A.B. CD147 polyfunctionality and new diagnostic and therapy opportunities. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review*, 2018, no. 4, pp. 22–30. (In Russ.)]
  23. Федякина И.Т., Шелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Ленева И.А., Гудова Н.В., Кондратьева Т.В., Львов Д.К. Изучение чувствительности пандемических штаммов вируса гриппа А H1N1 и высоковирулентных вирусов гриппа птиц А (H5N1) к противовирусным химиопрепаратам // Антибиотики и химиотерапия. 2011. Т. 56, № 3–4. С. 3–9. [Fedyakina I.T., Shchelkanov M.Yu., Deryabin P.G., Leneva I.A., Gudova N.V., Kondratyeva T.V., Lvov D.K. Susceptibility of pandemic influenza A 2009 H1N1 and highly pathogenic avian influenza virus A H5N1 to antiinfluenza agents in cell culture. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2011, vol. 56, no. 3–4, pp. 3–9. (In Russ.)]
  24. Чучалин А.Г. Тяжелый острый респираторный синдром // Терапевтический архив. 2004. № 3. С. 5–11. [Chuchalin A.G. Severe acute respiratory syndrome. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*, 2004, no. 3, pp. 5–11. (In Russ.)]
  25. Шаповалова Н.В., Лаврентьев А.А., Ермоленко С.В., Струк Ю.В., Пешков В.В. Перфторан и курсорф в лечении респираторного дистресс-синдрома // Общая реаниматология. 2006. Т. 2, № 3. С. 33–35. [Shapovalova N.V., Lavrentyev A.A., Yermolenko S.V., Struk Yu.V., Peshkov V.V. Perfluorane and curosurf in the treatment of respiratory distress syndrome. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*, 2006, vol. 2, no. 3, pp. 33–35 (In Russ.)].
  26. Шестопалов Н.В., Пантелеева Л.Г., Соколова Н.Ф., Абрамова И.М., Лукичев С.П. Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях. М., 2015. 67 с. [Shestopalov N.V., Panteleeva L.G., Sokolova N.F., Abramova I.M., Lukichev S.P. Federal clinical recommendations on the choice of chemical disinfection and sterilization products for use in medical organizations. Moscow, 2015. 67p. (In Russ.)]
  27. Шелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Ближневосточный респираторный синдром: когда вспыхнет тлеющий очаг? // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 2. С. 94–98. [Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. Middle East respiratory syndrome: when will smouldering focus outbreak? *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2015, no. 2, pp. 94–98. (In Russ.)]
  28. Шелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Эпидемическая вспышка Ближневосточного респираторного синдрома в Республике Корея (май-июль 2015 г.): причины, динамика, выводы // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 3. С. 25–29. [Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. Epidemic outbreak of Middle East respiratory syndrome in the Republic of Korea (May-July, 2015): reasons, dynamics, conclusions. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2015, no. 3, pp. 25–29. (In Russ.)]
  29. Шелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Грипп: история, клиника, патогенез // Лечащий врач. 2011. № 10. С. 33–38. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Influenza: history, clinics, pathogenesis. *Lechashchii vrach = The Attending Physician*, 2011, no. 10, pp. 33–38. (In Russ.)]
  30. Шелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (Nidovirales, Coronaviridae): возросший уровень эпидемической опасности // Лечащий врач. 2013. № 10. С. 49–54. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Human coronaviruses (Nidovirales, Coronaviridae): increased level of epidemic threat. *Lechashchii vrach = The Attending Physician*, 2013, no. 10, pp. 49–54. (In Russ.)]
  31. Шелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 221–246. [Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G., Akimkin V.G., Maleev V.V. The history of investigation and modern classification of coronaviruses (Nidovirales: Coronaviridae). *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 221–246. doi: 10.15789/2220-7619-HOI-1412 (In Russ.)]
  32. Шелканов М.Ю., Шибнев В.А., Финогенова М.П., Федякина И.Т., Гараев Т.М., Маркова Н.В., Кирилов И.М. Противовирусная активность производных адамантана в отношении вируса гриппа А (H1N1) pdm2009 на модели in vivo // Вопросы вирусологии. 2014. Т. 59, № 2. С. 37–40. [Shchelkanov M.Yu., Shibnev V.A., Finogenova M.P., Fedyakina I.T., Garaev T.M., Markova N.V., Kirillov I.M. The antiviral activity of adamantane derivatives against the influenza A (H1N1) pdm2009 model in vivo. *Voprosy Virusologii = Problems of Virology, Russian Journal*, 2014, vol. 59, no. 2, pp. 37–40. (In Russ.)]
  33. Шелканов М.Ю., Magassouba N'F., Boiro M.Y., Малеев В.В. Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке // Лечащий врач. 2014. № 11. С. 30–36. [Shchelkanov M.Yu., Magassouba N'F., Boiro M.Y., Maleev V.V. Reasons of Ebola epidemics development in Western Africa. *Lechashchii vrach = The Attending Physician*, 2014, no. 11, pp. 30–36 (In Russ.)]
  34. Шелканов М.Ю., Zoumanigui N., Boiro M.Ye., Малеев В.В. Пять «мифов» о лихорадке Эбола: где кончается вымысел? // Российский медицинский журнал. 2015. № 2. С. 58–65. [Shchelkanov M.Yu., Zoumanigui N., Boiro M.Ye., Maleev V.V. Five myths about Ebola fever: where does fiction come to an end? *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 2015, no. 2, pp. 58–65. (In Russ.)]

35. Adam Monteagudo L., Boothby A., Gertner E. Continuous intravenous Anakinra infusion to calm the cytokine storm in macrophage activation syndrome. *ACR Open Rheumatology*, 2020. doi: 10.1002/acr2.11135
36. Adao R. Inside the heart of COVID-19. *Cardiovasc. Res.*, 2020: cvaa086. doi: 10.1093/cvr/cvaa086
37. Agostini M.L., Andres E.L., Sims A.C., Graham R.L., Sheahan T.P., Lu X., Smith E.C., Case J.B., Feng J.Y., Jordan R., Ray A.S., Cihlar T., Siegel D., Mackman R.L., Clarke M.O., Baric R.S., Denison M.R. Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exoribonuclease. *mBio*, 2018, vol. 9, no. 2: e00221-18. doi: 10.1128/mBio.00221-18
38. Ahn J.Y., Sohn Y., Lee S.H., Cho Y., Hyun J.H., Baek Y.J., Jeong S.J., Kim J.H., Ku N.S., Yeom J.S., Roh J., Ahn M.Y., Chin B.S., Kim Y.S., Lee H., Yong D., Kim H.O., Kim S., Choi J.Y. Use of convalescent plasma therapy in two COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome in Korea. *J. Korean Med. Sci.*, 2020, vol. 35, no. 14: e149. doi: 10.3346/jkms.2020.35.e149
39. Arabi Y.M., Shalhoub S., Mandourah Y., Al-Hameed F., Al-Omari A., Al Qasim E., Jose J., Alraddadi B., Almotairi A., Al Khatib K., Abdulmomen A., Qushmaq I., Sindi A.A., Mady A., Solaiman O., Al-Raddadi R., Maghrabi K., Ragab A., Al Mekhlafi G.A., Balkhy H.H., Al Harthi A., Kharaba A., Gramish J.A., Al-Aithan A.M., Al-Dawood A., Merson L., Hayden F.G., Fowler R. Ribavirin and interferon therapy for critically ill patients with middle east respiratory syndrome: a multicenter observational study. *Clin. Infect. Dis.*, 2020, vol. 70, no. 9, pp. 1837–1844. doi: 10.1093/cid/ciz544
40. Azhar E.I., El-Kafrawy S.A., Farraj S.A., Hassan A.M., Al-Saeed M.S., Hashem A.M., Madani T.A. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. *N. Engl. J. Med.*, 2014, vol. 370, no. 26, pp. 2499–2505. doi: 10.1056/NEJMoa1401505
41. Bansal M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes Metab. Syndr.*, 2020, vol. 14, no. 3, pp. 247–250. doi: 10.1016/j.dsx.2020.03.013
42. Berhes M., Fabian A., Laszlo I., Vegh T., Molnar C., Fulesdi B., Koszta G. Advanced organ support and life-sustaining therapies in critically ill COVID-19 infected patients. *Orv. Hetil.*, 2020, vol. 161, no. 17, pp. 704–709. doi: 10.1556/650.2020.31813
43. Bermingham A., Chand M.A., Brown C.S., Aarons E., Tong C., Langrish C., Hoschler K., Brown K., Galiano M., Myers R., Pebody R.G., Green H.K., Boddington N.L., Gopal R., Price N., Newsholme W., Drosten C., Fouchier R.A., Zambon M. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. *Euro Surveill.*, 2012, vol. 17: 10290.
44. Bojar H., Knap J.P. Nitazoxanide (“Alinia”) — a promising antiparasitic drug. *Wiad. Parazytol.*, 2010, vol. 56, no. 1, pp. 11–18.
45. Booth C.M., Matukas L.M., Tomlinson G.A., Rachlis A.R., Rose D.B., Dwosh H.A., Walmsley S.L., Mazzulli T., Avendano M., Derkach P., Ephtimos I.E., Kitai I., Mederski B.D., Shadowitz S.B., Gold W.L., Hawryluck L.A., Rea E., Chenkin J.S., Cescon D.W., Poutanen S.M., Detsky A.S. Clinical features and short-term outcomes of 144 patients with SARS in the greater Toronto area. *JAMA*, 2003, vol. 289, no. 21, pp. 2801–2809. doi: 10.1001/jama.289.21.JOC30885
46. Brown A.J., Won J.J., Graham R.L., Dinno K.H. 3rd, Sims A.C., Feng J.Y., Cihlar T., Denison M.R., Baric R.S., Sheahan T.P. Broad spectrum antiviral remdesivir inhibits human endemic and zoonotic deltacoronaviruses with a highly divergent RNA dependent RNA polymerase. *Antiviral Res.*, 2019, vol. 169: 104541. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.104541
47. Caly L., Druce J.D., Catton M.G., Jans D.A., Wagstaff K.M. The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Res.*, 2020, vol. 178: 104787. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104787
48. Caly L., Druce J., Roberts J., Bond K., Tran T., Kosteci R., Yoga Y., Naughton W., Taiaroa G., Seemann T., Schultz M.B., Howden B.P., Korman T.M., Lewin S.R., Williamson D.A., Catton M.G. Isolation and rapid sharing of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) from the first patient diagnosed with COVID-19 in Australia. *Med. J. Aust.*, 2020. doi: 10.5694/mja.2.50569
49. Cao B., Wang Y., Wen D., Liu W., Wang J., Fan G., Ruan L., Song B., Cai Y., Wei M., Li X., Xia J., Chen N., Xiang J., Yu T., Bai T., Xie X., Zhang L., Li C., Yuan Y., Chen H., Li H., Huang H., Tu S., Gong F., Liu Y., Wei Y., Dong C., Zhou F., Gu X., Xu J., Liu Z., Zhang Y., Li H., Shang L., Wang K., Li K., Zhou X., Dong X., Qu Z., Lu S., Hu X., Ruan S., Luo S., Wu J., Peng L., Cheng F., Pan L., Zou J., Jia C., Wang J., Liu X., Wang S., Wu X., Ge Q., He J., Zhan H., Qiu F., Guo L., Huang C., Jaki T., Hayden F.G., Horby P.W., Zhang D., Wang C. A trial of Lopinavir-Ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *N. Engl. J. Med.*, 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2001282
50. Cellina M., Orsi M., Bombaci F., Sala M., Marino P., Oliva G. Favorable changes of CT findings in a patient with COVID-19 pneumonia after treatment with Tocilizumab. *Diagn. Interv. Imaging.*, 2020: S2211-5684(20)30087-5. doi: 10.1016/j.diii.2020.03.010
51. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, 2020, vol. 395, pp. 507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
52. Chen R.C., Tang X.P., Tan S.Y., Liang B.L., Wan Z.Y., Fang J.Q., Zhong N. Treatment of severe acute respiratory syndrome with glucocorticoids: the Guangzhou experience. *Chest*, 2006, vol. 129, no. 6, pp. 1441–1452. doi: 10.1378/chest.129.6.1441
53. Chen T., Wu D., Chen H., Yan W., Yang D., Chen G., Ma K., Xu D., Yu H., Wang H., Wang T., Guo W., Chen J., Ding C., Zhang X., Huang J., Han M., Li S., Luo X., Zhao J., Ning Q. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*, 2020, vol. 368: m1091. doi: 10.1136/bmj.m1091
54. Chen Z., Mi L., Xu J., Yu J., Wang X., Jiang J., Xing J., Shang P., Qian A., Li Y., Shaw P.X., Wang J., Duan S., Ding J., Fan C., Zhang Y., Yang Y., Yu X., Feng Q., Li B., Yao X., Zhang Z., Li L., Xue X., Zhu P. Function of HAb18G/CD147 in invasion of host cells by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Infect. Dis.*, 2005, vol. 191, no. 5, pp. 755–760. doi: 10.1086/427811
55. Cheng Y., Wong R., Soo Y.O., Wong W.S., Lee C.K., Ng M.H., Chan P., Wong K.C., Leung C.B., Cheng G. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2005, vol. 24, no. 1, pp. 44–46. doi: 10.1007/s10096-004-1271-9
56. Cheung K.S., Hung I.F., Chan P.P., Lung K.C., Tso E., Liu R., Ng Y.Y., Chu M.Y., Chung T.W., Tam A.R., Yip C.C., Leung K.H., Yim-Fong Fung A., Zhang R.R., Lin Y., Cheng H.M., Zhang A.J., To K.K., Chan K.H., Yuen K.Y., Leung W.K. Gastrointestinal manifestations of SARS-CoV-2 infection and virus load in fecal samples from the Hong Kong cohort and systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*, 2020: S0016-5085(20)30448-0. doi: 10.1053/j.gastro.2020.03.065
57. Chiappelli F., Khakshooy A., Greenberg G. CoViD-19 immunopathology and immunotherapy. *Bioinformatics*, 2020, vol. 16, no. 3, pp. 219–222. doi: 10.6026/97320630016219

58. Chu C.M., Cheng V.C., Hung I.F., Wong M.M., Chan K.H., Chan K.S., Kao R.Y., Poon L.L., Wong C.L., Guan Y., Peiris J.S., Yuen K.Y., HKU/UCH SARS Study Group. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings. *Thorax*, 2004, vol. 59, no. 3, pp. 252–256. doi: 10.1136/thorax.2003.012658
59. Chu H., Chan J.F., Wang Y., Yuen T.T., Chai Y., Hou Y., Shuai H., Yang D., Hu B., Huang X., Zhang X., Cai J.P., Zhou J., Yuan S., Kok K.H., To K.K., Chan I.H., Zhang A.J., Sit K.Y., Au W.K., Yuen K.Y. Comparative replication and immune activation profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in human lungs: an ex vivo study with implications for the pathogenesis of COVID-19. *Clin. Infect. Dis.*, 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa410
60. Colson P., Rolain J.M., Lagier J.C., Brouqui P., Raoult D. Chloroquine and hydroxychloroquine as available weapons to fight COVID-19. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2020: 105932. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105932
61. Cron R.Q., Chatham W.W. The rheumatologist's role in COVID-19. *J. Rheumatol.*, 2020: jrheum.200334. doi: 10.3899/jrheum.200334
62. De Luna G., Habibi A., Deux J.F., Colard M., d'Alexandry d'Orengiani A.L.P.H., Schlemmer F., Joher N., Kassasseya C., Pawlotsky J.M., Ourghanlian C., Michel M., Mekontso-Dessap A., Bartolucci P. Rapid and severe COVID-19 pneumonia with severe acute chest syndrome in a sickle cell patient successfully treated with Tocilizumab. *Am. J. Hematol.*, 2020. doi: 10.1002/ajh.25833
63. Drosten C., Kellam P., Memish Z.A. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. *N. Engl. J. Med.*, 2014, vol. 371, no. 14, pp. 1359–1360. doi: 10.1056/NEJMc1409847
64. Gamino-Arroyo A.E., Guerrero M.L., McCarthy S., Ramirez-Venegas A., Llamosas-Gallardo B., Galindo-Fraga A., Moreno-Espinosa S., Roldán-Aragon Y., Araujo-Melendez J., Hunsberger S., Ibarra-Gonzalez V., Martínez-Lopez J., Garcia-Andrade L.A., Kapushoc H., Holley H.P., Smolskis M.C., Ruiz-Palacios G.M., Beigel J.H., Mexico Emerging Infectious Diseases Clinical Research Network (LaRed). Efficacy and safety of Nitazoxanide in addition to standard of care for the treatment of severe acute respiratory illness. *Clin. Infect. Dis.*, 2019, vol. 69, no. 11, pp. 1903–1911. doi: 10.1093/cid/ciz100
65. Gao J., Tian Z., Yang X. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Biosci. Trends.*, 2020, vol. 14, no. 1, pp. 72–73. doi: 10.5582/bst.2020.01047
66. Gautret P., Lagier J.C., Parola P., Hoang V.T., Meddeb L., Mailhe M., Doudier B., Courjon J., Giordanengo V., Vieira V.E., Dupont H.T., Honore S., Colson P., Chabriere E., La Scola B., Rolain J.M., Brouqui P., Raoult D. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2020: 105949. doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101663
67. Giani M., Seminati D., Lucchini A., Foti G., Pagni F. Exuberant plasmocytosis in bronchoalveolar lavage specimen of the first patient requiring extracorporeal membrane oxygenation for SARS-CoV-2 in Europe. *J. Thorac. Oncol.*, 2020. doi: 10.1016/j.jtho.2020.03.008
68. Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S., de Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A.A., Haagmans B.L., Lauber C., Leontovich A.M., Neuman B.W., Penzar D., Perlman S., Poon L.L.M., Samborskiy D., Sidorov I.A., Sola I., Ziebuhr J. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses — a statement of the Coronavirus Study Group. *Nature Microbiol.*, 2020, vol. 5, no. 4, pp. 536–544.
69. Gordon C.J., Tchesnokov E.P., Feng J.Y., Porter D.P., Gotte M. The antiviral compound remdesivir potently inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J. Biol. Chem.*, 2020, vol. 295, no. 15, pp. 4773–4779. doi: 10.1074/jbc.AC120.013056
70. Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., Liu X.L., Zhuang Z.X., Cheung C.L., Luo S.W., Li P.H., Zhang L.J., Guan Y.J., Butt K.M., Wong K.L., Chan K.W., Lim W., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Peiris J.S., Poon L.L. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, 2003, vol. 302, pp. 276–278. doi: 10.1126/science.1087139
71. Henkin R.I., Larson A.L., Powell R.D. Hypogeusia, dysgeusia, hyposmia, and dysosmia following influenza-like infection. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1975, vol. 84, no. 1, pp. 672–682. doi: 10.1177/000348947508400519
72. Henwood A.F. Coronavirus disinfection in histopathology. *J. Histotechnol.*, 2020, no. 1, pp. 1–3. doi: 10.1080/01478885.2020.1734718
73. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N.H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pohlmann S. SARS-CoV-2 Cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 2020, vol. 181, no. 2, pp. 271–280. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052
74. Hong X., Xiong J., Feng Z., Shi Y. Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO): does it have a role in the treatment of severe COVID-19? *Int. J. Infect. Dis.*, 2020. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.058
75. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu W., Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo L., Xie J., Wang G., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020, vol. 395, pp. 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
76. Hui D.S., Azhar E., Madani T.A., Ntoumi F., Kock R., Dar O., Ippolito G., Mchugh T.D., Memish Z.A., Drosten C., Zumla A., Petersen E. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health - The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 91, pp. 264–266. doi: 10.1016/j.ijid.2020.01.009
77. Hummel T., Heilmann S., Huttenbriuk K.B. Lipoic acid in the treatment of smell dysfunction following viral infection of the upper respiratory tract. *Laryngoscope*, 2002, vol. 112, no. 11, pp. 2076–2080. doi: 10.1097/00005537-200211000-00031
78. Hung I.F., To K.K., Lee K., Chan K., Yan W., Liu R., Watt C.L., Chan W.M., Lai K.Y., Koo C.K., Buckley T., Chow F.L., Wong K.K., Chan H.S., Ching C.K., Tang B.S., Lau C.C., Li I.W., Liu S.H., Chan K.H., Lin C.K., Yuen K.Y. Convalescent plasma treatment reduced mortality in patients with severe pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus infection. *Clin. Infect. Dis.*, 2011, vol. 52, pp. 447–456. doi: 10.1378/chest.12-2907
79. Karami P., Naghavi M., Feyzi A., Aghamohammadi M., Novin M.S., Mobaeni A., Qorbanisani M., Karami A., Norooznezhad A.H. Mortality of a pregnant patient diagnosed with COVID-19: A case report with clinical, radiological, and histopathological findings. *Travel Med. Infect. Dis.*, 2020. doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101665
80. Kawase M., Shirato K., van der Hoek L., Taguchi F., Matsuyama S. Simultaneous treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *J. Virol.*, 2012, vol. 86, no. 12, pp. 6537–6545. doi: 10.1128/JVI.00094-12

81. Kotch C., Barrett D., Teachey D.T. Tocilizumab for the treatment of chimeric antigen receptor T cell-induced cytokine release syndrome. *Expert Rev. Clin. Immunol.*, 2019, vol. 15, no. 8, pp. 813–822. doi: 10.1080/1744666X.2019.1629904
82. Lechien J.R., Chiesa-Estomba C.M., De Siatì D.R., Horoi M., Le Bon S.D., Rodriguez A., Dequanter D., Blecic S., El Afia F., Distinguin L., Chekkoury-Idrissi Y., Hans S., Delgado I.L., Calvo-Henriquez C., Lavigne P., Falanga C., Barillari M.R., Cammaroto G., Khalife M., Leich P., Souchay C., Rossi C., Journe F., Hsieh J., Edjlali M., Carlier R., Ris L., Lovato A., De Filippis C., Coppee F., Fakhry N., Ayad T., Saussez S. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 2020. doi: 10.1007/s00405-020-05965-1
83. Lee N., Hui D., Wu A., Chan P., Cameron P., Joynt G.M., Ahuja A., Yung M.Y., Leung C.B., To K.F., Lui S.F., Szeto C.C., Chung S., Sung J.J. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N. Engl. J. Med.*, 2003, vol. 348, no. 20, pp. 1986–1994. doi: 10.1056/NEJMoa030685
84. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., Wang H., Cramer G., Hu Z., Zhang H., Zhang J., McEachern J., Field H., Daszak P., Eaton B.T., Zhang S., Wang L.F. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 2005, vol. 310, pp. 676–679. doi: 10.1126/science.1118391
85. Li Y.C., Bai W.Z., Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *J. Med. Virol.*, 2020. doi: 10.1002/jmv.25728
86. Lin L., Jiang X., Zhang Z., Huang S., Zhang Z., Fang Z., Gu Z., Gao L., Shi H., Mai L., Liu Y., Lin X., Lai R., Yan Z., Li X., Shan H. Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection. *Gut*, 2020: gutjnl-2020-321013. doi: 10.1136/gutjnl-2020-321013
87. Lipworth B., Chan R., Lipworth S., Rui Wen Kuo C. Weathering the cytokine storm in susceptible patients with severe SARS-CoV-2 infection. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2020: S2213-2198(20)30365-2. doi: 10.1016/j.jaip.2020.04.014
88. Liu P., Chen W., Chen J.P. Viral metagenomics revealed Sendai virus and coronavirus infection of Malayan pangolins (*Manis javanica*). *Viruses*, 2019, vol. 11, no. 11: E979. doi: 10.3390/v11110979
89. Liu Y., Yang Y., Zhang C., Huang F., Wang F., Yuan J., Wang Z., Li J., Li J., Feng C., Zhang Z., Wang L., Peng L., Chen L., Qin Y., Zhao D., Tan S., Yin L., Xu J., Zhou C., Jiang C., Liu L. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci. China Life Sci.*, 2020. doi: 10.1007/s11427-020-1643-8
90. Luers J.C., Klussmann J.P., Guntinas-Lichius O. The Covid-19 pandemic and otolaryngology: What it comes down to? *Laryngorhinootologie*, 2020. doi: 10.1055/a-1095-2344
91. Luo P., Liu Y., Qiu L., Liu X., Liu D., Li J. Tocilizumab treatment in COVID-19: A single center experience. *J. Med. Virol.*, 2020. doi: 10.1002/jmv.25801
92. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovskiy S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and Ecology. *Academic Press*, 2015. 452 p.
93. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., Alkhovskiy S.V., Zaberezhny A.D., Soares D. Evolution of HPAI H5N1 virus in natural ecosystems of Northern Eurasia (2005–2008). *Avian Dis.*, 2010, vol. 54, pp. 483–495. doi: 10.1637/8893-042509-Review.1
94. Mao L., Wang M., Chen S., He Q., Chang J., Hong C., Zhou Y., Wang D., Li Y., Jin H., Hu B. Neurological manifestations of hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective case series study. *MedRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.02.22.20026500
95. Marra M.A., Jones S.J., Astell C.R., Holt R.A., Brooks-Wilson A., Butterfield Y.S., Khattra J., Asano J.K., Barber S.A., Chan S.Y., Cloutier A., Coughlin S.M., Freeman D., Girn N., Griffith O.L., Leach S.R., Mayo M., McDonald H., Montgomery S.B., Pandoh P.K., Petrescu A.S., Robertson A.G., Schein J.E., Siddiqui A., Smailus D.E., Stott J.M., Yang G.S., Plummer F., Andonov A., Artsob H., Bastien N., Bernard K., Booth T.F., Bowness D., Czub M., Drebot M., Fernando L., Flick R., Garbutt M., Gray M., Grolla A., Jones S., Feldmann H., Meyers A., Kabani A., Li Y., Normand S., Stroher U., Tipples G.A., Tyler S., Vogrig R., Ward D., Watson B., Brunham R.C., Krajden M., Petric M., Skowronski D.M., Upton C., Roper R.L. The genome sequence of the SARS-associated coronavirus. *Science*, 2003, vol. 300, pp. 1399–404. doi: 10.1126/science.1085953
96. Memish Z.A., Mishra N., Olival K.J., Fagbo S.F., Kapoor V., Epstein J.H., Alhakeem R., Durosinloun A., Al Asmari M., Islam A., Kapoor A., Briese T., Daszak P., Al Rabeeah A.A., Lipkin W.I. Middle East respiratory syndrome coronavirus in bats, Saudi Arabia. *Emerg. Infect. Dis.*, 2013, vol. 19, no. 11, pp. 1819–1823. doi: 10.3201/eid1911.131172
97. Morgan S.E., Vukin K., Mosakowski S., Solano P., Stanton L., Lester L., Lavani R., Hall J.B., Tung A. Use of heliox delivered via high-flow nasal cannula to treat an infant with coronavirus-related respiratory infection and severe acute air-flow obstruction. *Respiratory Care*, 2014, vol. 59, no. 11: e166-70. doi: 10.4187/respcare.02728
98. National Health Commission (NHC) of the People's Republic of China. The diagnosis and treatment guide of COVID-19 pneumonia caused by new coronavirus infection. 7th Edition (3 March, 2020). URL: [http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-03/04/content\\_5486705.htm](http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-03/04/content_5486705.htm) (22.04.2020)
99. Noorwali A.A., Turkistani A.M., Asiri S.I., Trabulsi F.A., Alwafi O.M., Alzahrani S.H., Rashid M.M., Hegazy S.A., Alzaydi M.D., Bawakid K.O. Descriptive epidemiology and characteristics of confirmed cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in the Makkah Region of Saudi Arabia, March to June 2014. *Ann. Saudi Med.*, 2015, vol. 35, no. 3, pp. 203–209. doi: 10.5144/0256-4947.2015.203
100. O'Brien T.R., Thomas D.L., Jackson S.S., Prokunina-Olsson L., Donnelly R.P., Hartmann R. Weak induction of interferon expression by SARS-CoV-2 supports clinical trials of interferon lambda to treat early COVID-19. *Clin. Infect. Dis.*, 2020: ciaa453. doi: 10.1093/cid/ciaa453
101. Patri A., Fabbrocini G. Hydroxychloroquine and ivermectin: a synergistic combination for COVID-19 chemoprophylaxis and/or treatment? *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2020: S0190-9622(20)30557-0. doi: 10.1016/j.jaad.2020.04.017
102. Patterson A., Hahner A., Kitzler H.H., Hummel T. Are small olfactory bulbs a risk for olfactory loss following an upper respiratory tract infection? *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 2015, vol. 272, no. 11, pp. 3593–3594. doi: 10.1007/s00405-015-3524-x
103. Perico L., Benigni A., Remuzzi G. Should COVID-19 concern nephrologists? Why and to what extent? The emerging impasse of angiotensin blockade. *Nephron*, 2020, vol. 23, pp. 1–9. doi: 10.1159/000507305
104. Poyiadji N., Shahin G., Noujaim D., Stone M., Patel S., Griffith B. COVID-19-associated acute hemorrhagic necrotizing encephalopathy: CT and MRI features. *Radiology*, 2020. doi: 10.1148/radiol.2020201187

105. Prasad S., Potdar V., Cherian S., Abraham P., Basu A. Transmission electron microscopy imaging of SARS-CoV-2. *Indian J. Med. Res.*, 2020. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_577\_20
106. Prokunina-Olsson L., Alphonse N., Dickenson R.E., Durbin J.E., Glenn J.S., Hartmann R., Kolenko S.V., Lazear H.M., O'Brien T.R., Odendall C., Onabajo O.O., Piontkivska H., Santer D.M., Reich N.C., Wack A., Zanoni I. COVID-19 and emerging viral infections: The case for interferon lambda. *J. Exp. Med.*, 2020, vol. 217, no. 5: e20200653. doi: 10.1084/jem.20200653
107. Qinfen Z., Jinming C., Xiaojun H., Huanying Z., Jicheng H., Ling F., Kunpeng L., Jingqiang Z. The life cycle of SARS coronavirus in Vero E6 cells. *J. Med. Virol.*, 2004, vol. 73, no. 3, pp. 332–337. doi: 10.1002/jmv.20095
108. Reinke L.M., Spiegel M., Plegge T., Hartleib A., Nehlmeier I., Gierer S., Hoffmann M., Hofmann-Winkler H., Winkler M., Pohlmann S. Different residues in the SARS-CoV spike protein determine cleavage and activation by the host cell protease TMPRSS2. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 6: e0179177. doi: 10.1371/journal.pone.0179177
109. Rockman S., Lowther S., Camuglia S., Vandenberg K., Taylor S., Fabri L., Miescher S., Pearse M., Middleton D., Kent S.J., Maher D. Intravenous immunoglobulin protects against severe pandemic influenza infection. *EBioMedicine*, 2017, vol. 19, pp. 119–127. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.04.010
110. Rossignol J.F. Nitazoxanide, a new drug candidate for the treatment of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J. Infect. Public Health.*, 2016, vol. 9, no. 3, pp. 227–230. doi: 10.1016/j.jiph.2016.04.001
111. Russell F.M., Reyburn R., Chan J., Tuivaga E., Lim R., Lai J., Van H.M.T., Choummanivong M., Sychareun V., Khanh D.K.T., de Campo M., Enarson P., Graham S., La Vincente S., Mungan T., von Mollendorf C., Mackenzie G., Mulholland K. Impact of the change in WHO's severe pneumonia case definition on hospitalized pneumonia epidemiology: case studies from six countries. *Bull. World Health Organ.*, 2019, vol. 97, no. 6, pp. 386–393. doi: 10.2471/BLT.18.223271
112. Ryu S., Chun B.C. An interim review of the epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus. *Epidemiol. Health.*, 2020, vol. 42: e2020006. doi: 10.4178/epih.e2020006
113. Sallard E., Lescure F.X., Yazdanpanah Y., Mentre F., Peiffer-Smadja N. Type 1 interferons as a potential treatment against COVID-19. *Antiviral Res.*, 2020, vol. 178: 104791. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104791
114. Sheahan T.P., Sims A.C., Graham R.L., Menachery V.D., Gralinski L.E., Case J.B., Leist S.R., Pyrc K., Feng J.Y., Trantcheva I., Bannister R., Park Y., Babusis D., Clarke M.O., Mackman R.L., Spahn J.E., Palmiotti C.A., Siegel D., Ray A.S., Cihlar T., Jordan R., Denison M.R., Baric R.S. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Sci. Transl. Med.*, 2017, vol. 9: eaal3653. doi: 10.1126/scitranslmed.aal3653
115. Sheahan T.P., Sims A.C., Leist S.R., Schäfer A., Won J., Brown A.J., Montgomery S.A., Hogg A., Babusis D., Clarke M.O., Spahn J.E., Bauer L., Sellers S., Porter D., Feng J.Y., Cihlar T., Jordan R., Denison M.R., Baric R.S. Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nat. Commun.*, 2020, vol. 11, no. 1, pp. 222. doi: 10.1038/s41467-019-13940-6
116. Siegel D., Hui H.C., Doerffler E., Clarke M.O., Chun K., Zhang L., Neville S., Carra E., Lew W., Ross B., Wang Q., Wolfe L., Jordan R., Soloveva V., Knox J., Perry J., Perron M., Stray K.M., Barauskas O., Feng J.Y., Xu Y., Lee G., Rheingold A.L., Ray A.S., Bannister R., Strickley R., Swaminathan S., Lee W.A., Bavari S., Cihlar T., Lo M.K., Warren T.K., Mackman R.L. Discovery and synthesis of a phosphoramidate prodrug of a pyrrolo[2,1-f][triazin-4-amino] adenine C-nucleoside (GS-5734) for the treatment of Ebola and emerging viruses. *J. Med. Chem.*, 2017, vol. 60, no. 5, pp. 1648–1661. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b01594
117. Song Y., Liu P., Shi X.L., Chu Y.L., Zhang J., Xia J., Gao X.Z., Qu T., Wang M.Y. SARS-CoV-2 induced diarrhoea as onset symptom in patient with COVID-19. *Gut*, 2020: gutjnl-2020-320891. doi: 10.1136/gutjnl-2020-320891
118. Sonricker-Hansen A.L., Li A., Joly D., Mekaru S., Brownstein J.S. Digital surveillance: a novel approach to monitoring the illegal wildlife trade. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 12: e51156. doi: 10.1371/journal.pone.0120891
119. Stockman L.J., Bellamy R., Garner P. SARS: systematic review of treatment effects. *PLoS Medicine*, 2006, vol. 3, no. 9: e343. doi: 10.1371/journal.pmed.0030343
120. Suzuki M., Saito K., Min W.P., Vladau C., Toida K., Itoh H., Murakami S. Identification of viruses in patients with postviral olfactory dysfunction. *Laryngoscope*, 2007, vol. 117, no. 2, pp. 272–277. doi: 10.1097/01.mlg.0000249922.37381.1e
121. Syal K. COVID-19: Herd immunity and convalescent plasma transfer therapy. *J. Med. Virol.*, 2020. doi: 10.1002/jmv.25870
122. Teixeira da Silva J.A. Convalescent plasma: A possible treatment of COVID-19 in India. *Med. J. Armed Forces India*, 2020. doi: 10.1016/j.mjafi.2020.04.006
123. Tett S.E. Clinical pharmacokinetics of slow-acting antirheumatic drugs. *Clin Pharmacokinet.*, 1993, vol. 25, no. 5, pp. 392–407. doi: 10.2165/00003088-199325050-00005
124. The COVID-19 Investigation Team. First 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. *MedRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.03.09.20032896
125. Udugama B., Kadhiresan P., Kozlowski H.N., Malekjhani A., Osborne M., Li V.Y.C., Chen H., Mubareka S., Gubbay J.B., Chan W.C.W. Diagnosing COVID-19: the disease and tools for detection. *ACS Nano*, 2020. doi: 10.1021/acsnano.0c02624
126. Wagstaff K.M., Sivakumaran H., Heaton S.M., Harrich D., Jans D.A. Ivermectin is a specific inhibitor of importin  $\alpha/\beta$ -mediated nuclear import able to inhibit replication of HIV-1 and dengue virus. *Biochem. J.*, 2012, vol. 443, no. 3, pp. 851–856. doi: 10.1042/BJ20120150
127. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J., Wang B., Xiang H., Cheng Z., Xiong Y., Zhao Y., Li Y., Wang X., Peng Z. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.1585
128. Wang K., Chen W., Zhou Y.S., Lian J.Q., Zhang Z., Du P., Gong L., Zhang Y., Cui H.Y., Geng J.J., Wang B., Sun X.X., Wang C.F., Yang X., Lin P., Deng Y.Q., Wei D., Yang X.M., Zhu Y.M., Zhang K., Zheng Z.H., Miao J.L., Guo T., Shi Y., Zhang J., Fu L., Wang Q.Y., Bian H., Zhu P., Chen Z.-N. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein. *bioRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.03.14.988345 doi: 10.1101/2020.03.14.988345
129. Wang M., Cao R., Zhang L., Yang X., Liu J., Xu M., Shi Z., Hu Z., Zhong W., Xiao G. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.*, 2020, vol. 30, no. 3, pp. 269–271. doi: 10.1038/s41422-020-0282-0

130. Wang X., Xu W., Hu G., Xia S., Sun Z., Liu Z., Xie Y., Zhang R., Jiang S., Lu L. SARS-CoV-2 infects T lymphocytes through its spike protein-mediated membrane fusion. *Cell Mol. Immunol.*, 2020. doi: 10.1038/s41423-020-0424-9
131. Wang Z., Xu X. scRNA-seq profiling of human testes reveals the presence of the ACE2 receptor, a target for SARS-CoV-2 infection in spermatogonia, Leydig and Sertoli cells. *Cells*, 2020, vol. 9, no. 4: E920. doi: 10.3390/cells9040920
132. Warner F.J., Guy J.L., Lambert D.W., Hooper N.M., Turner A.J. Angiotensin converting enzyme-2 (ACE2) and its possible roles in hypertension, diabetes and cardiac function. *Lett. Peptide Sci.*, 2003, vol. 10, no. 5, pp. 377–385. doi: 10.1007/s10989-004-2387-6
133. Warren T.K., Jordan R., Lo M.K., Ray A.S., Mackman R.L., Soloveva V., Siegel D., Perron M., Bannister R., Hui H.C., Larson N., Strickley R., Wells J., Stuthman K.S., Van Tongeren S.A., Garza N.L., Donnelly G., Shurtleff A.C., Retterer C.J., Gharaibeh D., Zamani R., Kenny T., Eaton B.P., Grimes E., Welch L.S., Gomba L., Wilhelmsen C.L., Nichols D.K., Nuss J.E., Nagle E.R., Kugelman J.R., Palacios G., Doerffler E., Neville S., Carra E., Clarke M.O., Zhang L., Lew W., Ross B., Wang Q., Chun K., Wolfe L., Babusis D., Park Y., Stray K.M., Trancheva I., Feng J.Y., Barauskas O., Xu Y., Wong P., Braun M.R., Flint M., McMullan L.K., Chen S.S., Fearn R., Swaminathan S., Mayers D.L., Spiropoulou C.F., Lee W.A., Nichol S.T., Cihlar T., Bavari S. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature*, 2016, vol. 531, pp. 381–385. doi: 10.1038/nature17180
134. Webster R.G. Wet markets — a continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza? *Lancet*, 2004, vol. 363, pp. 234–236. doi: 10.1016/S0140-6736(03)15329-9
135. Wong M.C., Cregeen S., Ajami N.J., Petrosino J.F. Evidence of recombination in coronaviruses implicating pangolin origins of nCoV-2019. *bioRxiv*, 2020. doi: https://doi.org/10.1101/2020.02.07.939207
136. World Health Organization. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. Interim guidance (13 March 2020). URL: [https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected](https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected) (22.04.2020)
137. World Health Organization. MERS situation update, January 2020. URL: <http://www.emro.who.int/health-topics/mers-cov/mers-outbreaks.html> (22.04.2020)
138. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report 1 (21 January 2020). URL: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10\\_4](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4) (22.04.2020)
139. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report 22 (11 February 2020). URL: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1_2) (22.04.2020)
140. World Health Organization. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 (based on data as of the 31 December 2003). URL: [https://www.who.int/csr/sars/country/table2004\\_04\\_21/en](https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en) (22.04.2020)
141. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S., Goldsmith J.A., Hsieh C.L., Abiona O., Graham B.S., McLellan J.S. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 2020, vol. 367, pp. 1260–1263. doi: 10.1126/science.abb2507
142. Wu C., Chen X., Cai Y., Xia J., Zhou X., Xu S., Huang H., Zhang L., Zhou X., Du C., Zhang Y., Song J., Wang S., Chao Y., Yang Z., Xu J., Zhou X., Chen D., Xiong W., Xu L., Zhou F., Jiang J., Bai C., Zheng J., Song Y. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern. Med.*, 2020. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994
143. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W., Song Z.G., Hu Y., Tao Z.W., Tian J.H., Pei Y.Y., Yuan M.L., Zhang Y.L., Dai F.H., Liu Y., Wang Q.M., Zheng J.J., Xu L., Holmes E.C., Zhang Y.Z. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
144. Wu Y., Wang T., Guo C., Zhang D., Ge X., Huang Z., Zhou X., Li Y., Peng Q., Li J. Plasminogen improves lung lesions and hypoxemia in patients with COVID-19. *QJM*, 2020. doi: 10.1093/qjmed/hcaa121
145. Wu Y., Xu X., Chen Z., Duan J., Hashimoto K., Yang L., Liu C., Yang C. Nervous system involvement after infection with COVID-19 and other coronaviruses. *Brain Behav. Immun.*, 2020: S0889-1591(20)30357-3. doi: 10.1016/j.bbi.2020.03.031
146. Xia S., Liu M., Wang C., Xu W., Lan Q., Feng S., Qi F., Bao L., Du L., Liu S., Qin C., Sun F., Shi Z., Zhu Y., Jiang S., Lu L. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Res.*, 2020, vol. 30, no. 4, pp. 343–355. doi: 10.1038/s41422-020-0305-x
147. Xing Y.H., Ni W., Wu Q., Li W.J., Li G.J., Wang W.D., Tong J.N., Song X.F., Wing-Kin Wong G., Xing Q.S. Prolonged viral shedding in feces of pediatric patients with coronavirus disease 2019. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2020: S1684-1182(20)30081-5. doi: 10.1016/j.jmii.2020.03.021
148. Yan R., Zhang Y., Li Y., Xia L., Guo Y., Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 2020, vol. 367, no. 1444–1448. doi: 10.1126/science.abb2762
149. Yang S.N.Y., Atkinson S.C., Wang C., Lee A., Bogoyevitch M.A., Borg N.A., Jans D.A. The broad spectrum antiviral ivermectin targets the host nuclear transport importin  $\alpha/\beta$  heterodimer. *Antiviral Res.*, 2020, vol. 177: 104760. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104760
150. Yao X., Ye F., Zhang M., Cui C., Huang B., Niu P., Liu X., Zhao L., Dong E., Song C., Zhan S., Lu R., Li H., Tan W., Liu D. In vitro antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin. Infect. Dis.*, 2020: ciaa237. doi: 10.1093/cid/ciaa237
151. Ye M., Fu D., Ren Y., Wang F., Wang D., Zhang F., Xia X., Lv T. Treatment with convalescent plasma for COVID-19 patients in Wuhan, China. *J. Med. Virol.*, 2020. doi: 10.1002/jmv.25882
152. Ye Q., Wang B., Mao J. The pathogenesis and treatment of the “Cytokine Storm” in COVID-19. *J. Infect.*, 2020: S0163-4453(20)30165-1. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.037
153. Yeh K.M., Chiueh T.S., Siu L.K., Lin J.C., Chan P.K., Peng M.Y., Wan H.L., Chen J.H., Hu B.S., Perng C.L., Lu J.J., Chang F.Y. Experience of using convalescent plasma for severe acute respiratory syndrome among healthcare workers in a Taiwan hospital. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005, vol. 56, no. 5, pp. 919–922. doi: 10.1093/jac/dki346
154. Young B.E., Ong S.W.X., Kalimuddin S., Low J.G., Tan S.Y., Loh J., Ng O.T., Marimuthu K., Ang L.W., Mak T.M., Lau S.K., Anderson D.E., Chan K.S., Tan T.Y., Cui L., Said Z., Kurupatham L., Chen M.I., Chan M., Vasoo S., Wang L.F., Tan B.H., Lin R.T.P., Lee V.J.M., Leo Y.S., Lye D.C., Singapore 2019 novel coronavirus outbreak research team. Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA*, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.3204
155. Zaki A.M., Van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.*, 2012, vol. 367, no. 19, pp. 1814–1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721

156. Zhang C., Wu Z., Li J.W., Zhao H., Wang G.Q. The cytokine release syndrome (CRS) of severe COVID-19 and Interleukin-6 receptor (IL-6R) antagonist Tocilizumab may be the key to reduce the mortality. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2020: 105954. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105954
157. Zhang H., Penninger J.M., Li Y., Zhong N., Slutsky A.S. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.*, 2020, vol. 46, no. 4, pp. 586–590. doi: 10.1007/s00134-020-05985-9
158. Zhang M.C., Xie H.T., Xu K.K., Cao Y. Suggestions for disinfection of ophthalmic examination equipment and protection of ophthalmologist against 2019 novel coronavirus infection. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*, 2020, vol. 56: E001. doi: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2020.0001
159. Zhao Y., Zhao Z., Wang Y., Zhou Y., Ma Y., Zuo W. Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan COVID-19. *bioRxiv*, 2020. URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.26.919985v2>
160. Zheng M., Gao Y., Wang G., Song G., Liu S., Sun D., Xu Y., Tian Z. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol. Immunol.*, 2020. doi: 10.1038/s41423-020-0402-2
161. Zhou B., Zhong N., Guan Y. Treatment with convalescent plasma for influenza A (H1N1) infection. *N. Engl. J. Med.*, 2007, vol. 357, pp. 1451. doi: 10.1056/NEJMc070359
162. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, vol. 579, pp. 270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7

**Авторы:**

**Щелканов М.Ю.**, д.б.н., доцент, руководитель Международного научно-образовательного Центра биологической безопасности Роспотребнадзора в Дальневосточном федеральном университете; зав. лабораторией вирусологии Федерального научного Центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии, эксперт ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае, г. Владивосток, Россия;

**Колобухина Л.В.**, д.м.н., профессор, зав. лабораторией респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств Института вирусологии им. Д.И. Иванковского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ, Москва, Россия;

**Бургасова О.А.**, д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

**Кружкова И.С.**, научный сотрудник лаборатории респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств Института вирусологии им. Д.И. Иванковского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ, Москва, Россия;

**Малеев В.В.**, д.м.н., профессор, академик РАН, советник директора по научной работе Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

**Authors:**

**Shchelkanov M.Yu.**, PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head of the International Scientific and Educational Center for Biological Security of Rospotrebnadzor in the Far Eastern Federal University; Head of the Laboratory of Virology, Federal Scientific Center of East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences; Expert of the "Center of Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory", Vladivostok, Russian Federation;

**Kolobukhina L.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Respiratory Viral Infections with Tested Drugs in the D.I. Ivanovsky Institute of Virology of the N.F. Gamaleya National Scientific Center of Epidemiology and Microbiology, Russian Ministry of Public Health, Moscow, Russian Federation;

**Burgasova O.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Infectious Diseases with Courses in Epidemiology and Phthisiology of the Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation;

**Kruzhkova I.S.**, Researcher, Laboratory of Respiratory Viral Infections with Tested Drugs in the D.I. Ivanovsky Institute of Virology of the N.F. Gamaleya National Scientific Center of Epidemiology and Microbiology, Russian Ministry of Public Health, Moscow, Russian Federation;

**Maleev V.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Advisor of the Director for Research of the Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 27.04.2020  
Принята к печати 03.05.2020

Received 27.04.2020  
Accepted 03.05.2020

# НЕКОТОРЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

В.С. Смирнов<sup>1,2</sup>, Арег А. Тотолян<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> АО МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Обзор посвящен анализу средств иммуномодулирующей терапии при коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2 (COVID-19). Как известно, существует очень ограниченный арсенал относительно эффективных средств и методов профилактики и лечения COVID-19. Цель подготовленного обзора литературы — проанализировать некоторые терапевтические подходы к терапии COVID-19 с позиций воздействия на систему врожденного иммунитета. Одним из средств с доказанной терапевтической эффективностью является серотерапия плазмой, полученной из крови выздоравливающих больных. Показано, что переливание плазмы сопровождается сокращением вирусной нагрузки и купированием симптомов заболевания. Недостатком серотерапии является ограниченное количество потенциальных доноров плазмы и значительное варьирование содержания в донорской плазме титров специфических антител. Другим подходом к терапии является применение инженерных моноклональных антител против определенных антигенных детерминант вируса, чаще всего против поверхностного спайк-антигена. Антитела, блокирующие этот антиген, способны предотвратить проникновение вируса в клетку и развитие манифестной инфекции. Кроме того, имеются моноклональные антитела, предотвращающие выработку или связывающие избыточное количество провоспалительных цитокинов, таких как IL-6, TNF $\alpha$  и др. Некоторые из подобных антител (тоцилизумаб) уже испытаны при COVID-19, другие пока проходят исследования и испытания. Определенным прорывом в терапии стали хорошо известные препараты хлорохин и дигидрохлорохин, показавшие себя эффективными средствами противовирусной, противовоспалительной и иммуномодулирующей терапии. Наконец, был предложен новый поликомпонентный иммуномодулирующий препарат Цитовир-3, уже прошедший клинические испытания и рекомендованный к применению при профилактике и терапии гриппа и ОРВИ, который может найти свое место при профилактике COVID-19, поскольку возбудитель SARS-CoV-2 также относится к возбудителям острых респираторных вирусных инфекций. Таким образом, в арсенале средств профилактики и лечения COVID-19 имеются препараты для иммуномодулирующей терапии и профилактики иммунных нарушений, развивающихся в ответ на внедрение патогенного вируса и снижающих риск возможного ущерба. Правильное и научно обоснованное их применение позволит повысить эффективность борьбы с пандемией коронавирусной инфекции.

**Ключевые слова:** коронавирус, SARS-CoV, MERS-CoV, COVID-19, серотерапия, плазма реконвалесцентов, моноклональные антитела, хлорохин, дигидрохлорохин, Цитовир-3.

## SOME OPPORTUNITIES FOR IMMUNOTHERAPY IN CORONAVIRUS INFECTION

Smirnov V.S.<sup>a,b</sup>, Totolian Areg A.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> JSC MBNPK "Cytomed", St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Here we review means of immunomodulatory therapy for coronavirus infection caused by SARS-CoV-2 (COVID-19). It has been appreciated that highly limited arsenal of relatively effective means and methods of prevention and treatment of the COVID-19 pandemic is available. The goal of our study was to analyze some therapeutic approaches

---

### Адрес для переписки:

Смирнов Вячеслав Сергеевич  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.  
Тел.: 8 911 948-59-22 (моб.).  
E-mail: vssmi@mail.ru

### Contacts:

Vyacheslav S. Smirnov  
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,  
St. Petersburg Pasteur Institute.  
Phone: +7 911 948-59-22 (mobile).  
E-mail: vssmi@mail.ru

### Библиографическое описание:

Смирнов В.С., Тотолян Арег А. Некоторые возможности иммунотерапии при коронавирусной инфекции // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 446–458. doi: 10.15789/2220-7619-SPO-1470

### Citation:

Smirnov V.S., Totolian Areg A. Some opportunities for immunotherapy in coronavirus infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 446–458. doi: 10.15789/2220-7619-SPO-1470

based on available publications for COVID-19 treatment viewed from acting via innate immunity system. Convalescent plasma serotherapy represents one of the means with verified therapeutic efficacy that was accompanied with decreased viral load and relief of the disease symptoms. The drawback of serotherapy results from limited number of potential plasma donors and profound variety in amount of SARS-CoV-2-specific antibodies found in donor plasma. Another approach to COVID-19 therapy is based on using monoclonal antibodies engineered to target specific virus antigenic determinants, most often surface spike antigen. Antibodies blocking such antigen are able to prevent virus entrance into target cells and development of overt infection. On the other hand, there are monoclonal antibodies abrogating production or binding of excessive amounts of pro-inflammatory cytokines, such as IL-6, TNF $\alpha$ , etc., some of which (tocilizumab) have been already tested in COVID-19 therapy, whereas the remaining preparations are being currently investigated and tested. A certain breakthrough in COVID-19 therapy was provided by the well-known drugs chloroquine and dihydrochloroquine, which have proven to be effective as antiviral, anti-inflammatory and immunomodulatory means. Finally, a new multi-component immunomodulatory preparation Cytovir-3 has been proposed already passed clinical trials and recommended for use in prevention and treatment of influenza and SARS and might have found its own niche in preventing COVID-19, as SARS-CoV-2 also belongs to the group of acute respiratory viruses. Thus, the arsenal of means for COVID-19 prevention and treatment contains the drugs for immunomodulatory therapy and prevention of immune-related disorders developing in response to invasion pathogenic viruses and lowering a risk of possible damage. Hence, correct and scientifically justified use of such remedies will increase overall effectiveness of fight against the coronavirus pandemic.

**Key words:** coronavirus, SARS-CoV, MERS-CoV, COVID-19, serotherapy, plasma of convalescents, monoclonal antibodies, chloroquine, dihydrochloroquine, Cytovir-3.

## Введение

В декабре 2019 — январе 2020 гг. была зарегистрирована третья за последние 20 лет вспышка коронавирусной инфекции (CoV), названная COVID-19 (аббревиатура от слов COronaVirus Disease) [87]. В отличие от двух предыдущих она получила повсеместное распространение и затронула большинство стран мира, что послужило для ВОЗ основанием объявить пандемию CoV [20, 34, 74]. COVID-19 характеризуется заметной контагиозностью при сравнительно невысокой летальности в пределах 1–6% [74, 75, 79].

Несмотря на почти двадцатилетнюю историю патогенных CoV, методы их профилактики и лечения вызываемых ими заболеваний до сих пор, по существу, не разработаны. В качестве одной из причин такого положения могут быть особенности патогенеза CoV-инфекции и стремительное развитие пандемии, которые могли затруднить эффективность проводимых исследований.

Как известно, первичными воротами инфекции является однослойный эпителий легочных альвеол, куда вирус может внедриться пятью разными способами [3]. Наиболее типичным считается связывание спайк-белка (SP) CoV с рецептором ангиотензинпревращающего фермента (ACE) [15, 53]. Кроме ACE определенное значение в процессе инвазии SARS-CoV играет CD147, известный также как BASIGIN [81]. Наружная мембрана проникшего в эндосому вируса сливается с эндосомальной мембраной и высвобождает РНК вируса в цитоплазму, где происходит репликация вируса, сборка вирионов и целый каскад событий, сопровождающихся формированием воспалительного ответа [25, 32, 46, 52, 53].

Первичными отвечающими клетками, где происходит экспрессия и последующая секре-

ция провоспалительных цитокинов, являются альвеолоциты II порядка. Наряду с секрецией IL-6, TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IL2R, часть альвеолярного эпителия подвергается пироптотической гибели, продукты которой поглощаются гранулоцитами, моноцитами/макрофагами. Мигрировавшие поли- и мононуклеары в свою очередь активируются на дальнейшую секрецию провоспалительных цитокинов и хемокинов; одновременно с активацией воспалительных клеток наблюдается повышение проницаемости интерстициальных капилляров, что приводит к утечке из них плазмы и формированию локального отека [3, 32]. По мере развития и распространения воспалительного процесса вирус инфицирует дендритные клетки и различные субпопуляции мононуклеарных фагоцитов. При этом создаются условия для развития вирусемии, то есть генерализации инфекции, секреция цитокинов приобретает неконтролируемый характер, и в сыворотке крови значительно возрастает концентрация IFN $\gamma$ , IL-1, IL-6, IL-12 и TGF $\beta$ , CCL2, CXCL10, CXCL9 и IL-8, иными словами, первичная воспалительная реакция переходит в новую фазу — фазу цитокинового шторма [13, 91, 92]. Клинически это проявляется гипертермией, сухим кашлем, нарастанием дыхательной недостаточности, переходящей в острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), развиваются признаки нефропатии, а усиливающиеся гемодинамические нарушения и явления коагулопатии сопровождаются формированием диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) [35, 84, 94, 98].

В этой связи решающее значение приобретает адекватная терапия, направленная на купирование неконтролируемого процесса, индуцированного не столько вирусемией, сколько связанным с ней воспалением, которое имеет четкую связь с возрастом больного COVID-19. В иссле-

дованиях на животных и наблюдениях на людях отчетливо показано существенно более тяжелое течение воспаления у пожилых субъектов, при том что динамика вирусемии у пожилых и молодых приматов не показывает существенных различий [51, 73].

Из этого следует вполне определенная, на наш взгляд, гипотеза о том, что противовоспалительное лечение, в том числе направленное на «гашение» цитокинового шторма, для пожилых пациентов с COVID-19 может оказаться более приоритетной с позиции выживания, чем прямая терапия, направленная на элиминацию вируса. Одним из решений данной проблемы может стать использование иммуномодулирующей терапии, способной угнетать избыточные воспалительные реакции, восстанавливая таким образом гомеостатическую регуляцию нарушенных регуляторных функций. В этой связи авторы обзора попытались оценить некоторые средства снижения воспаления и ассоциированного с ним цитокинового шторма, уже прошедшие ту или иную клиническую апробацию (серотерапия плазмой реконвалесценто́в, моноклональные антитела, хлорохин и дигидрохлорохин), а также Цитовира-3, испытанного при других острых респираторных вирусных инфекциях и предлагаемого в качестве возможного терапевтического средства профилактики и/или терапии CoV.

## Эффективность применения плазмы и сыворотки реконвалесценто́в

Несмотря на почти двадцатилетнюю историю CoV, вопросы профилактики и лечения инфекции остаются практически неразработанными. Существуют различные методы терапии, имеющие больший или меньший уровень доказательности. В последнее время на фоне глобальной пандемии COVID-19 появляются разнообразные методы лечения, среди которых, возможно, окажется один наиболее эффективный, который станет своего рода золотым стандартом. А пока таковой отсутствует, определенное внимание привлекает метод трансфузионной терапии плазмой или сывороткой пациентов, выздоравливающих после COVID-19. Считается, что переливание реконвалесцентной плазмы может быть полезным при лечении больных тяжелыми формами респираторных вирусных инфекций. Показано, что применение реконвалесцентной плазмы сопровождается значительным сокращением продолжительности пребывания таких пациентов в стационаре [50].

Аналогичным образом при COVID-19 пассивная серотерапия плазменными антителами способна обеспечить защиту посредством нейтрализации патогенного вируса, при этом вероятны и другие механизмы, такие, например, как фагоцитоз и антителозависимая клеточная

цитотоксичность [12]. Интересно, что пассивная серотерапия считается более эффективной при профилактическом или раннем терапевтическом применении сразу после начала манифестации. Естественно, что для максимальной эффективности серотерапии необходимо вводить достаточное количество антител, с тем чтобы они циркулировали в крови от нескольких недель до месяца [12]. С другой стороны, важное значение имеет качество переливаемой плазмы или сыворотки с точки зрения содержания в ней антител в высоких титрах. К сожалению, достичь этого удается далеко не всегда, поскольку титры антител у пациентов-доноров могут варьировать в широких пределах [7]. Относительно объема серотрансфузии, необходимая доза должна варьировать в пределах 500 мл. В этом случае возможно снижение вирусной нагрузки по RT-PCR с  $500\text{--}600 \times 10^8$  копий вируса/мл до нуля в течение первых суток после переливания, а выявленные рентгенологические изменения в легких могут купироваться примерно за 4 дня до выписки из стационара [93]. Авторы также отметили, что одна из пациенток, получивших реконвалесцентную плазму, впоследствии забеременела и через 13 мес. родила здорового ребенка, при этом анти-SARS-CoV-антитела, были обнаружены как у матери, так и у младенца после родов. Это наблюдение свидетельствует, что пассивная серотерапия способствует продолжительной циркуляции анти-CoV-антител, по крайней мере в течение нескольких месяцев. Однако оно не согласуется с мнением Y.M. Arabi и соавт. [7], показавшими, что в крови пациента, перенесшего MERS-CoV, антитела, определенные в ELISA и методом непрямой иммунофлюоресценции после выздоровления, снижались до нуля уже через 9–10 мес. Трудно дать этому факту определенную оценку, но не исключено, что это могло быть особенностью конкретных пациентов или самого вируса.

В последнее время внимание к серотерапии усилилось в связи со вспышкой COVID-19. Показано, что плазма реконвалесцента использовалась как последнее средство для того чтобы компенсировать ухудшающееся состояние больного с COVID-19, даже на фоне применения метилпреднизолона [14]. Считается, что плазма реконвалесценто́в может подавлять виремию [63].

Хотя многоцентровых масштабных исследований эффективности применения плазмы реконвалесценто́в для лечения SARS-CoV-2 пока еще не проводилось, тем не менее серьезное осложнение эпидемической обстановки побудило Food and Drug Administration (FDA, США) одобрить применение плазмы от выздоровевших пациентов для лечения людей, которые находятся в критическом состоянии с COVID-19, при условии, что врачи получают разрешение по телефону [19]. Согласно опубликованному распоряжению FDA, «...плазма должна быть взята у вы-

здоровевших пациентов, которые могут сдавать кровь, у которых не было симптомов в течение 14 дней, и у них были отрицательные результаты при тестах на COVID-19».

Таким образом, в литературе существует единое мнение относительно возможности применения плазмы выздоравливающих в качестве последнего средства терапии COVID-19, применяемого тогда, когда все иные средства оказываются неэффективными. Вместе с тем следует отдавать отчет в том, что серотерапия по понятным причинам никогда не станет массовым терапевтическим приемом. Во-первых, для получения плазмы необходимо взять кровь у донора, причем донор должен соответствовать определенным требованиям по состоянию здоровья, наличию сопутствующих заболеваний, возрасту и др. Он не должен быть носителем коронавируса, наконец, необходимо его добровольное согласие на взятие крови, объем которой будет ограничен скорее всего 250 мл, максимум 500 мл.

При переливании плазмы от донора-реконвалесцента больному реципиенту необходимо также учитывать феномен антителозависимого усиления (англ. antibody-dependent enhancement, ADE). Смысл этого феномена состоит в том, что ненейтрализующие антитела, продуцирующиеся после инфекции, вакцинации или серотерапии, могут усиливать течение последующей инфекции [40, 96]. Показано в частности, что антитела выживших после перенесенной лихорадки Эбола обладают ADE против гомологичных или гетерологичных филовиров, что проявлялось в усилении тяжести инфекции после серотерапии [40]. Аналогичный феномен был выявлен у SARS-CoV, при этом основная роль в этом феномене принадлежит антителам против SP [37]. В частности, иммуноглобулин (Ig) класса G из мышиной сыворотки усиливал инфекцию SARS-CoV *in vitro* в культуре клеток Раджи при повышении его концентрации [95]. По отношению к COVID-19 указанный феномен до недавнего времени отмечен не был, что могло быть связано с недостаточностью сведений об эффективности применения плазмы реконвалесцентов. Эта проблема получила определенное разрешение только в последнее время. Так, J.A. Tetro [76] считает, что ADE неблагоприятно влияет на иммунный процесс и может усиливать воспаление, лимфопению, цитокиновый шторм, став, таким образом причиной летального исхода. Следует отметить, что ADE может развиваться не только вследствие трансфузии плазмы, содержащей ненейтрализующие антитела, но и некоторых форм вакцинных препаратов, что необходимо учитывать при разработке вакцин против патогенных CoV человека. Определенным способом преодоления данной проблемы может стать применение инженерных моноклональных антител, которые обладают более высокой специфичностью к определенным эпитомам вируса.

## Моноклональные антитела

Исследования патогенеза, течения и исхода SARS-CoV показало, что гуморальный иммунитет играет ведущую роль в течении и исходе заболевания. В этой связи одним из активно разрабатываемых направлений является применение моноклональных антител (МКАТ) к отдельным эпитомам вируса. Применение МКАТ является в настоящее время одним из наиболее перспективных направлений противoinфекционной терапии. Это обусловлено двумя основными причинами: технологичностью промышленного производства и высокой специфичностью. Как известно, возможности применения сыворотки или плазмы ограничены наличием реконвалесцентов, медицинскими показаниями, позволяющими взятие у донора ограниченного объема крови, согласием реконвалесцента, ослабленного заболеванием, на подобного рода медицинское вмешательство. В этом смысле МКАТ, секретируемые клеточными продуцентами и подвергающиеся аффинной очистке, лишены всех перечисленных выше недостатков

Разработано множество МКАТ, применяемых для терапии широкого круга заболеваний инфекционной и неинфекционной природы. Так, хорошую терапевтическую активность показали МКАТ, способные специфически связываться с SP [102]. Это направление получило мощный импульс к разработке в результате появления нового вируса SARS-CoV-2. В работе Z. Zheng, и соавт. [100], описан МКАТ A19, способный обнаруживать SP SARS-CoV и SARS-CoV-2 в инфицированных клетках. Авторы считают, что эти перекрестно реагирующие МКАТ, могут быть использованы для разработки диагностических тестов для обоих вирусов. Следует отметить, что в основе действия МКАТ к SP лежит высокоаффинное связывание с рецептор-связывающим доменом (англ. Receptor Binding Domain, RBD), что предотвращает инвазию вируса в клетку хозяина (рис. 1, вклейка, с. 1) [86, 102].

## Нейтрализующие антитела

Результатом действия анти-SP МКАТ может быть нейтрализация инвазивной способности вируса, при этом возможность формирования патологического процесса снижается, так как альтернативные пути вирусной инвазии существенно менее эффективны. И поскольку активность вируса подобным образом нейтрализуется, то соответствующие МКАТ названы нейтрализующими (NA) [102]. По состоянию на март 2020 г. описано, по меньшей мере, 11 NA для SARS-CoV и 14 — для MERS-CoV [69]. Немного сложнее обстоит вопрос с МКАТ к SARS-CoV-2. Прошло не так много времени, и пока получить спектр анти-COVID-19 МКАТ еще не удалось. Проблема осложняется тем, что имеющиеся МКАТ, нацеленные на SP к SARS-CoV, не всегда

связываются с аналогичным белком SARS-CoV-2. Так, например, два МКАТ (m396, CR3014), способных сильно связываться с RBD SP SARS-CoV, не удалось связать со SP SARS-CoV-2, в то время как другое МКАТ (CR3022) эффективно связывалось с обоими CoV [77, 97]. Дополнительные исследования позволили авторам сделать вывод о том, что в отличие от других МКАТ против SARS-CoV CR3022 распознает эпитоп, не перекрывающийся сайтом связывания SP SARS-CoV-2 с ACE2 клетки-хозяина [31, 77].

### МКАТ против N белка CoV

Кроме NA против RBD SP разрабатывались МКАТ к N-протеину (NP) CoV. Всего было разработано 6 МКАТ, названных N-17-13, N-30-12, S-39-2, S-125-2, S-144-3 и S-162-2, представляющих собой IgG1 [68]. Все созданные МКАТ оказались высокоспецифичными к N-белку SARS-CoV и не вступали в перекрестные реакции с другими CoV, например, с HCoV-OC43, 229E и NL63. Полученные результаты позволили авторам рекомендовать разработанные МКАТ для использования в диагностике NP SARS-CoV сэндвич-методом ELISA.

Среди множества разнообразных факторов, образующих систему гуморального иммунного ответа, NA, направленные на RBD SP, играют в этих процессах ведущую роль [18]. Собственно, NA представляют собой одну из разновидностей МКАТ, получаемых с помощью нескольких молекулярно-биологических приемов, среди которых можно упомянуть гибридную технологию, использование фагового дисплея, иммортализацию В-клеток выздоравливающих больных [17, 78].

### Терапевтические МКАТ

#### Тоцилизумаб

Описанные выше МКАТ, как правило, еще не прошли окончательной регистрации в качестве терапевтических средств или изначально, предназначались для разработки высокоспецифических диагностикумов. В отличие от этого Тоцилизумаб, представляющий собой препарат рекомбинантного гуманизированного МКАТ класса IgG1, направленного против мембрано-связанных и растворимых рецепторов интерлейкина-6 (IL-6R), одобренный FDA в качестве средства для лечения ревматоидного артрита и высвобождения цитокинов [39, 70], был испытан при лечении COVID-19 [33].

Известно, что цитокиновый шторм определяется неконтролируемой секрецией провоспалительных цитокинов IFN $\gamma$ , IL-1, IL-6, IL-12 и TGF $\beta$ , CCL2, CXCL10, CXCL9 и IL-8 [13]. Это обстоятельство является одной из ведущих предпосылок повышенной смертности от COVID-19. В этой связи вполне понятной была предпринятая попытка снизить выраженность цитокинового шторма посредством назначения коммер-

ческого препарата МКАТ — Тоцилизумаба — показавшего свою эффективность при терапии воспалительных заболеваний иного генеза [70]. Выбор IL-6 среди широкого спектра провоспалительных цитокинов в известной степени был обусловлен обнаруженной у больных с тяжелой формой COVID-19 повышенной генерации патогенных Th-клеток с фенотипом (GM-CSF<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>) и воспалительных моноцитов (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>), активно экспрессирующих IL-6 [28]. В серии исследований, выполненных в феврале 2020 г. в Китае, у пациентов, получавших Тоцилизумаб, отмечено быстрое купирование лихорадочной реакции, нормализация рентгенологической картины и улучшение дыхательной функции легких. Отмеченное достоверное увеличение содержания IL-6 и D-димера у умерших пациентов, по сравнению с выжившими, свидетельствует о нарастании цитокинового шторма, коагулопатии и возможном развитии ДВС [101].

Китайские исследователи считают, что Тоцилизумаб особенно показан при лечении критических случаев течения COVID-19, сопровождающегося повышением уровня IL-6. Максимальная рекомендуемая суточная доза препарата не должна превышать 800 мг (8–14 мг/кг) [цит. по: 54].

#### МКАТ-ингибиторы TNF $\alpha$

В связи с ведущей ролью воспалительного ответа, а в тяжелых случаях — сопровождающего его цитокинового шторма, продолжается поиск средств антицитокиновой терапии, среди которых определенное внимание привлекают другие МКАТ, помимо ингибитора IL-6R — тоцилизумаба. Среди подобных средств следует упомянуть блокаторы TNF $\alpha$ . Антитела против TNF $\alpha$  существуют уже более 20 лет и насчитывают несколько брендов, применяемых при ревматоидном артрите, воспалительных заболеваниях кишечника или анкилозирующем спондилите [64]. Учитывая, что цитокиновый шторм — центральное событие COVID-19, в котором одну из ведущих ролей играет TNF $\alpha$ , исследования соответствующих антицитокиновых МКАТ представляется совершенно оправданным. Экспериментальные исследования на мышах, инфицированных вирусом гриппа и вирулентным респираторно-синцитиальным вирусом, показали, что применение анти-TNF $\alpha$  МКАТ сопровождалось уменьшением потери веса животных и сокращением продолжительности заболевания [36]. Кроме экспериментальных исследований влияния анти-TNF $\alpha$  МКАТ, имеется обширный опыт их клинического использования. В этой связи логичным представляется исследование возможности применения ингибиторов TNF $\alpha$  при COVID-19 [26]. Авторы считают, что в их распоряжении имеются хотя и косвенные, но надежные доказательства в поддержку клинических испытаний анти-TNF $\alpha$ -терапии пациентов с COVID-19. Учитывая вы-

сокий риск развития ОРДС даже в первые дни заболевания, авторы предлагают начинать лечение МКАТ к TNF $\alpha$ , например, в виде инфликсимаба, как можно раньше. Если при этом будут получены предварительные данные о пользе и безопасности подобной терапии, то, по мнению авторов, пациентов в ряде случаев можно перевести на внебольничный режим применения препарата под соответствующим контролем [26]. Применение инфликсимаба под тщательным клиническим наблюдением считается относительно безопасным, хотя и не исключает развитие различных нежелательных реакций, в том числе активацию оппортунистических инфекций, дополнительную активацию цитокинового шторма, анафилактических реакций, формирование гиперчувствительности замедленного типа и др. [47, 56, 57].

#### **Меплазумаб**

Как уже было отмечено, ACE2 считается ключевым, но не единственным рецептором для инвазии SARS-CoV-2. Недавние исследования показали, что у него имеется еще одна возможность внедрения в клетку посредством связывания SP с рецептором CD147 [5]. Проведенный авторами анализ поверхностного плазмонного резонанса выявил взаимодействие CD147 и RBD SP с константой аффинности  $1,85 \times 10^{-7}$  М. Известно, что CD147 широко экспрессируется на клетках рака шейки матки, рака молочной железы, рака эндометрия, рака печени, системной красной волчанки и целого ряда других заболеваний [88]. Естественно, что эти свойства рецептора неизбежно превращают его в мишень для терапевтических вмешательств, реализующихся посредством специфических МКАТ [55]. Одно из таких МКАТ — меплазумаб — гуманизированное антитело против CD147, показавшее способность предотвращать проникновение вирусов SARS-CoV-2 в клетки-хозяина, ингибируя или полностью подавляя развитие инфекции [85]. Исследования в этом направлении продолжаются.

В обзоре приведено только несколько примеров возможных подходов к антицитокиновой терапии МКАТ. Думается, что эти возможности значительно шире, причем МКАТ могут быть эффективным средством как для диагностики, так и для терапии COVID-19, хотя для большей части терапевтических МКАТ это пока еще теоретические возможности. Клинические исследования в этом направлении только начинаются. Вместе с тем нужно помнить о присущем терапии МКАТ риске развития побочных реакций и тщательно оценивать соотношение «польза/риск».

### **Другие средства иммуномодулирующей терапии**

Одним из вероятных вариантов терапии COVID-19 может быть химиотерапия патогенетической направленности, не связанная с при-

менением МКАТ. В основе такого подхода лежит не императивная цель уничтожения вируса, которая решается прямыми противовирусными средствами, а компенсация и/или реабилитация нарушенных возбудителем критических функций организма восприимчивого хозяина, в том числе и разнообразных нарушений врожденной и адаптивной иммунных систем. Как неоднократно было отмечено, CoV-инфекция сопровождается широким спектром гомеостатических нарушений, таких как острая респираторная недостаточность, перерастающая в ОРДС, нефропатия, лимфопения, цитокиновый шторм и коагулопатии вплоть до ДВС и др. [3, 13, 41, 45, 67]. В этой связи обсуждение применений существующих препаратов для иммуномодулирующей терапии противовоспалительной направленности может оказаться оптимальным вариантом выбора на фоне отсутствия специфических противовирусных средств.

#### **Хлорохин и его производные**

Хлорохин представляет собой ацидотропную форму хинина, синтезированную как заменитель природного соединения хинина. Препарат более 70 лет применяется при лечении малярии, однако эффективность его по этому показанию постепенно снижалась вследствие быстрого развития резистентности к химиопрепарату малярийного плазмодия. Синтез его производного дигидрохлорохина не сильно изменил ситуацию. Вместе с тем в процессе исследования соединения были выявлены многочисленные факты, свидетельствующие о возможности использования хлорохина и его производных при лечении широкого круга заболеваний. Так, была установлена активность препарата при лечении системной красной волчанки, аутоиммунных заболеваний и множества разнообразных вирусных инфекций [27, 42, 48, 58, 66]. Казалось бы, столь широкий спектр фармакологической активности хорошо известного соединения не мог не вызвать интереса к оценке противовирусной активности при CoV, особенно на фоне первой вспышки атипичной пневмонии, вызванной SARS-CoV в 2003 г. Так, уже в ноябре 2003 г. была опубликована статья А. Savarino и соавт. [65], в которой авторы выдвинули гипотезу о том, что хлорохин может быть эффективен при клиническом ведении больных SARS-CoV. Работы, выполненные в нескольких исследовательских группах, полностью подтвердили правомерность этой гипотезы, а также позволили сформулировать и доказать механизм действия хлорохина и его производных (рис. 2, вклейка, с. 1) [21, 38, 80].

Хлорохин оказывает сильное противовирусное действие уже на первых фазах фиксации вируса на восприимчивой клетке. Так, было установлено, что препарат препятствует терминальному гликозилированию ACE2, что сопровождается нарушением процесса связы-

вания между SP и рецептором клетки хозяина, предотвращает инвазию вируса с последующей блокировкой дальнейших внутриклеточных событий [80]. Показано максимальное ингибирование инфицирования CoV клеток Vero при введении хлорохина в течение первых 3-х часов в дозе  $4,4 \pm 1,0$  мкМ, если препарат вносили сразу после вирусной абсорбции. Если хлорохин вносили через 3–5 ч после абсорбции вируса, ингибирующее действие еще наблюдалось, но при этом требовалась более высокая доза ингибитора. Однако ACE2 — не единственный рецептор, гликозилирование которого угнетает инвазию патогенных CoV. Показано, что ганглиозидсвязывающий домен, занимающий 111–158 позицию N-концевого домена белка SARS-CoV-2, может улучшать прикрепление вируса к липидным рафтам и облегчать контакт с ACE2, однако в присутствии хлорохина эта способность вируса полностью утрачивается [24].

Кроме ингибирования рецепторного связывания, хлорокин воздействует и на внутриклеточные пути метаболизма вируса (рис. 2). Учитывая, что вирион в связке с ACE2 или CD147 мигрирует в эндосому, то в результате цепи событий мембрана вируса сливается с эндосомальной мембраной, вирусная РНК мигрирует в цитоплазму, копирует парную цепь и трансдуцируется в эндоплазматическую сеть для последующей репликации и сборки [83]. Все эти процессы требуют подкисления эндосомы и цитоплазмы. Между тем хлорохин и дигидрохлорохин являются слабыми основаниями, которые сдвигают внутриклеточный pH в щелочную зону до уровня, при котором описанные выше реакции угнетаются, а какие-то совсем останавливаются [22, 65].

Помимо процессов транскрипции и репликации вируса, в клетке накапливаются продукты вирусного метаболизма, распознаваемые TLR 3/7, после чего сигнал трансдуцируется по регуляторному каскаду, конечным событием которого является синтез провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6, IL-18, TNF $\alpha$  [44]. Большинство из них секретируется в протоформе и для их созревания необходимо формирование полипротеинового комплекса NLRP3 инфламмосомы, которая также формируется при кислой реакции цитоплазмы [2, 3, 72]. Исследования показали, что хлорохин снижает высвобождение IL-1 $\beta$ , ингибирует созревание pro-TNF в зрелую молекулу TNF $\alpha$ , а также ингибирует экспрессию генов IL-6 и IL-12 [22].

Таким образом, приведенные данные убедительно свидетельствуют в пользу важности иммуномодулирующего действия хлорохина, реализующегося через подавление провоспалительных механизмов, таких как активация экспрессии и синтеза провоспалительных цитокинов и NLRP3-инфламмосомы [3]. Эти фармакологические активности в сочетании со способностью хлорохина и его аналогов подавлять инвазию вируса в клетку и последующее высвобождение ви-

русной РНК свидетельствует о перспективности применения семейства хлорохиновых синтетических аналогов хинина для терапии COVID-19. Можно предположить, что оптимальное время применения препаратов — начальные фазы манифестации инфекции, когда вирусная нагрузка еще не достигла максимального уровня и вирусемия не приобрела распространенного характера. Важно начать введение хлорохина до развития ОРДС, сопровождающегося тяжелыми дыхательными расстройствами, которые могут потребовать назначения антигипоксантов, кислородных ингаляций или даже перевода пациента на искусственную вентиляцию легких. Временно принятая схема терапии предусматривает применение хлорохина в дозе 500 мг внутрь 2 раза в день, при котором серьезных побочных реакций на хлорохинфосфат у пациентов не отмечалось [54]. Существует представление о несколько большей токсичности хлорохина перед его гидроксильным производным, однако в сравнительном двухэтапном исследовании *in vitro* на клетках было показано, что активность гидроксихлорохина ( $EC_{50}$  0,72 мкМ) была в 7,6 раза выше, чем хлорохина ( $EC_{50}$  5,47 мкМ) против SARS-CoV-2 [90]. Интересный опыт применения дигидрохлорохина по 200 мг каждые 8 часов опубликованы в работе P. Gautret и соавт. [30]. По данным авторов клинический эффект, оценивавшийся по проценту эрадикации SARS-CoV-2 на 6-й день лечения, составил 70%, при 12,5% в контрольной группе ( $p = 0,001$ ).

Как бы то ни было, терапия COVID-19 хлорохином получила признание в Китае, США [29, 43], и на данный момент решается вопрос терапевтического применения препарата в других странах. В Китае продолжают клинические испытания, направленные на разработку оптимальной схемы лечения COVID-19 хлорохином и его производными [16].

Появляющиеся в последнее время публикации о заметной токсичности хлорохина и гидроксихлорохина зачастую связаны с высокой дозой и/или продолжительностью применения при лечении тех или иных заболеваний, особенно при совместном применении с метформином или азитромицином 60, 61, 82]. В то же время в других исследованиях подобной токсичности не выявлено [49]. Неоднократно было показано, что принятые терапевтические дозы препаратов, особенно при сравнительно коротких курсах применения, были вполне безопасны и не вызывали существенных побочных или нежелательных реакций на фоне явно позитивных терапевтических результатов у больных COVID-19 [60, 62, 71]. Как справедливо указывают S. Rawaf и соавт. [62], «хлорохин и гидроксихлорохин обычно безопасны и хорошо переносятся в обычных дозировках, но могут быть чрезвычайно токсичными при передозировке». Таким образом, можно согласиться с тем, что хлорокин и, особенно, гидроксихлорокин являются приемлемой терапев-

тической альтернативой при отсутствии иных, более эффективных лечебных препаратов и точном соблюдении безопасных доз и схем применения. При этом ни хлорохин, ни его производное гидроксихлорокин не относятся в полной мере к препаратам иммуномодулирующей направленности, хотя и проявляют отчетливое противовоспалительное действие. Включение этих препаратов в терапию COVID-19 в известной степени обусловлено наблюдающимся эффектом, актуальным в текущей эпидемиологической ситуации.

### Цитовир-3 (медицинская гипотеза)

В обзоре представлен ряд очевидных примеров иммуномодулирующей терапии COVID-19, предложенных для аттенуации самого очевидного признака — цитокинового шторма. Разумеется, приведенными примерами далеко не исчерпывается весь арсенал имеющихся средств. К числу вероятных способов профилактики воспалительной реакции при COVID-19 может быть отнесен прием поликомпонентного лекарственного препарата Цитовир-3, внедренного в клиническую практику в качестве средства для профилактики и раннего лечения острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), к числу которых относятся и грипп, и CoV [2]. Препарат состоит из 3-х компонентов: глутамил-триптофана, бендазола и аскорбиновой кислоты в соотношении 1:40:100, производится в 3-х лекарственных формах — порошок, сироп и капсул, предназначенных для перорального приема.

Первый компонент, натриевая соль глутамил-триптофана (глу-трп), обладает свойствами тимомиметика, способен стимулировать экспрессию эндосомальных TLR 3, 7, 9 и снижать выработку TNF $\alpha$  и IL-6A в культурах клеток F231 [2, 4]. Другой компонент — 2-бензилбензидазол гидрохлорид (бендазол) ингибирует NF- $\kappa$ B, причем бензидазольный каркас выполняет функцию фармакофора [9]. Показано также, что бендазол снижает утечку ионов K<sup>+</sup> и вероятно уменьшает внутриклеточное содержание ионов Ca<sup>2+</sup> [1]. Последний компонент, аскорбиновая кислота, обладает выраженными антиоксидантными свойствами, способностью усиливать пролиферацию и дифференцировку T- и B-клеток, а также угнетать активацию фактора транскрипции NF- $\kappa$ B и последующую экспрессию IL-1 и TNF $\alpha$  [10, 11, 99]. На рисунке 3 (см. вклейку, с. II) представлен возможный механизм действия Цитовира-3, на основании которого можно полагать, что аддитивное действие входящих в состав компонентов сопровождается явным противовоспалительным эффектом.

Клинические испытания Цитовира-3 при гриппе и ОРВИ показали, что курсовое применение препарата (1 капсула 3 раза в день 4 дня подряд) на вспышке гриппа типа А способствовало купированию эпидемической вспышки гриппа и снижению заболеваемости до спорадического уровня

через 3 дня после курсового лечения, при том что в контрольной группе добровольцев, получавших симптоматическую терапию, вспышка завершилась на 15 дней позднее. При этом у лиц, получавших Цитовир-3, достоверно возрастал титр специфических антител к циркулировавшим в коллективе возбудителям: гриппу А, гриппу В, парагриппу, аденовирусам, респираторно-синцитиальному вирусу, *M. pneumoniae* [2]. Учитывая, что CoV также относится к группе респираторных вирусов, можно с некоторой вероятностью предполагать, что применение Цитовира-3 на фоне преобладающей иннаппарантной формы течения COVID-19 [6, 8] также может сопровождаться подобной сероконверсией.

Результаты исследования, полученные на модели гриппа и ОРВИ, свидетельствуют о высокой вероятности реализации хотя бы части выявленных закономерностей развития респираторных инфекций и при COVID-19. Разумеется, «близкое» не значит «подобное». COVID-19, как и любая высокопатогенная инфекция, имеет ряд уникальных особенностей, главными из которых являются альвеолы как входные ворота инфекции и быстрое развитие массивной воспалительной реакции с исходом в ОРДС и ДВС. Найдет ли в этих условиях Цитовир-3 свою терапевтическую нишу? Вероятнее всего найдет. Однако ответить утвердительно на поставленный вопрос будет возможно только после проведения соответствующих исследований.

### Заключение

Особенностью CoV, патогенных для человека, является явно недостаточный арсенал эффективных средств профилактики и лечения, что при сравнительно высокой контагиозности SARS-CoV-2 предопределяет быстрое глобальное распространение инфекции, которое значительно отстает от скорости разработки вакцин и химиопрепаратов [23, 67, 103]. Тем не менее уже на настоящем этапе имеется некоторый арсенал средств, позволяющих, в известной степени, контролировать инфекционный процесс при COVID-19. Среди этих средств и методов большой интерес вызывает метод серотерапии плазмой реконвалесценто́в [50]. Как известно, в основе этого метода заложен классический принцип связывания антигена антителами, циркулирующими у пациента, перенесшего манифестную форму заболевания. Одно из исследований показало эффективность подобного подхода [14], но и одновременно продемонстрировало его ограниченность, связанную с конечным числом реконвалесценто́в, а, следовательно, и ограниченностью объема получаемой плазмы. Кроме того, не следует сбрасывать со счетов и гетерогенность получаемого препарата вследствие естественного колебания содержания специфических антител у пациентов-доноров [7].

Определенным решением проблемы может быть применение инженерных МКАТ к конкретным антигенным детерминантам вируса [59]. К настоящему времени разработано большое количество МКАТ, применяемых в терапии широкого круга онкологических, воспалительных и аутоиммунных заболеваний [64], успешно разрабатываются специфические НА к SP COVID-19 [102]. Однако прошло еще недостаточно времени для завершения этих работ и запуска производства лекарственных препаратов анти-SP НА. В настоящее время показана эффективность разрешенного препарата МКАТ — Тоцилизумаба [33], и рекомендуются к клиническим испытаниям блокаторы TNF $\alpha$  [26].

Большой интерес вызывает довольно старое семейство хлорохина и дигидрохлорохина — препаратов, применяемых не только для лечения малярии, но и широкого круга различных противовоспалительных, аутоиммунных заболеваний и вирусных инфекций [27, 58, 66]. Показано, что препараты обладают широким спектром

фармакологических активностей, в том числе и при COVID-19. В настоящее время препарат получил широкое распространение как одно из наиболее эффективных из имеющихся средств терапии COVID-19 [29, 43]. Так, в Китае проводится целый ряд клинических испытаний хлорохина и дигидрохлорохина [16].

Проблема профилактики CoV не находится в центре внимания эпидемиологов и инфекционистов, тем не менее в настоящее время разработан и внедрен в клиническую практику Цитовир-3 — препарат, который вполне может решать эти вопросы. Три компонента, входящие в состав препарата, позволяют эффективно снижать интенсивность воспаления — ключевого патологического процесса при COVID-19. Профилактическая стратегия при COVID-19 предлагается для рассмотрения как гипотеза, имеющая, на наш взгляд, достаточно оснований, полученных при профилактическом и терапевтическом применении Цитовира-3 при гриппе и ОРВИ, к числу которых относится и CoV.

## Список литературы/References

1. Вислобоков А.И., Мызников Л.В., Тарасенко А.А., Шабанов П.Д. Влияние дибазола и его новых производных на ионные каналы нейронов моллюска // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2013. Т. 11, № 3. С. 26–32. [Vislobokov A.I., Myznikov L.V., Tarasenko A.A., Shabanov P.D. Influence of dibazole and its new derivatives on the ion channels of mollusk neurons. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii = Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*, 2013, vol. 11, no. 3, pp. 26–32. (In Russ.)]
2. Смирнов В.С., Зарубаев В.В., Петленко С.В. Биология возбудителей и контроль гриппа и ОРВИ. СПб.: Гиппократ, 2020. 336 с. [Smirnov V.S., Zarubaev V.V., Petlenko S.V. Pathology biology and control of influenza and ARVI. *St. Petersburg: Hippocrates Publishing*, 2020. 336 p. (In Russ.)]
3. Смирнов В.С., Тотолян Арег А. Врожденный иммунитет при коронавирусной инфекции // *Инфекция и иммунитет*. 2020. Т. 10, № 2. С. 259–268. [Smirnov V.S., Totolian Areg A. Innate immunity in coronavirus infection. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 259–268. doi: 10.15789/2220-7619-III-1440 (In Russ.)]
4. Соколова Т.М., Полосков В.В., Шувалов А.Н., Бурова О.С., Соколова З.А. Сигнальные TLR/RLR-механизмы иммуномодулирующего действия препаратов ингавирин и тимоген // *Российский биотерапевтический журнал*. 2019. Т. 18, № 1. С. 60–66. [Sokolova T.M., Poloskov V.V., Shuvalov A.N., Burova O.S., Sokolova Z.A. Signaling TLR/RLR-mechanisms of immunomodulating action of ingavirin and thymogen preparations. *Rossiiskij bioterapevticheskij zhurnal = Russian Journal of Biotherapy*, 2019, vol. 18, no. 1, pp. 60–66. doi: 10.17650/1726-9784-2019-18-1-60-66 (In Russ.)]
5. Aguiar J.A., Tremblay B.J.-M., Mansfield M.J., Woody O., Lobb B., Banerjee A., Chan-diramohan A., Tiessen N., Dvorkin-Gheva A., Revill S., Miller M.S., Carlsten C., Organ L., Joseph C., John A., Hanson P., McManus B.M., Jenkins G., Mossman K., Ask K., Doxey A.C., Hirota J.A. Gene expression and in situ protein profiling of candidate SARS-CoV-2 receptors in human airway epithelial cells and lung tissue. *bioRxiv*, 2020: 030742. doi: 10.1101/2020.04.07.030742
6. Anastassopoulou C., Russo L., Tsakris A., Siettos C. Data-based analysis, modelling and forecasting of the COVID-19 outbreak. *PLoS One*, 2020, vol. 15, no. 3: e0230405. doi: 10.1371/journal.pone.0230405
7. Arabi Y.M., Hajeer A.H., Luke T., Raviprakash K., Balkhy H., Johani S., Al-Dawood A., Al-Qahtani S., Al-Omari A., Al-Hameed F., Hayden F.G., Fowler R., Bouchama A., Shindo N., Al-Khairy K., Carson G., Taha Y., Sadat M., Alahmadi M. Feasibility of using convalescent plasma immunotherapy for MERS-CoV infection, Saudi Arabia. *Emerg. Infect. Dis.*, 2016, vol. 22, no. 9, pp. 1554–1561. doi: 10.3201/eid2209.151164
8. Battagay M., Kuehl R., Tschudin-Sutter S., Hirsch H.H., Widmer R.A. 2019-novel Coronavirus (2019-nCoV): estimating the case fatality rate — a word of caution. *Swiss Med. Wkly*, 2020, vol. 150: 20203. doi: 10.4414/smw.2020.20203
9. Boggu P., Venkateswararao E., Manickam M., Kwak D., Kim Y., Jung S.-H. Exploration of 2-benzylbenzimidazole scaffold as novel inhibitor of NF- $\kappa$ B. *Bioorg. Med. Chem.*, 2016, vol. 24, no. 8, pp. 1872–1878. doi: 10.1016/j.bmc.2016.03.012
10. Bowie A.G., O'Neill L.A.J. Vitamin C inhibits NF- $\kappa$ B activation by TNF via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Immunol.*, 2000, vol. 165, pp. 7180–7188. doi: 10.4049/jimmunol.165.12.7180
11. Carr A.C., Maggini S. Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 2017, vol. 9, no. 11: E1211. doi: 10.3390/nu9111211
12. Casadevall A., Pirofski L.J. The convalescent sera option for containing COVID-19. *Clin. Invest.*, 2020, vol. 130, no. 4, pp. 1545–1548. doi: 10.1172/JCI138003
13. Channappanavar R., Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin. Immunopathol.*, 2017, vol. 39, pp. 529–539. doi: 10.1007/s00281-017-0629-x

14. Chen L., Xiong J., Bao L., Shi Y. Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19. *Lancet. Infect. Dis.*, 2020, vol. 20, no. 4, pp. 398–400. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30141-9
15. Chen Y., Guo Y., Pan Y., Zhao Z.J. Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2020. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.02.071
16. Chinese Clinical Trial Register (ChiCTR) The world health organization international clinical trials registered organization registered platform. URL: <http://www.chictr.org.cn/enIndex.aspx>
17. Coughlin M.M., Lou G., Martinez O., Masterman S.K., Olsen O.A., Moksa A.A., Farzan M., Babcook J.S., Prabhakara B.S., Generation and characterization of human monoclonal neutralizing antibodies with distinct binding and sequence features against SARS coronavirus using XenoMouse®. *Virology*, 2007, vol. 361, no. 1, pp. 93–102. doi: 10.1016/j.virol.2006.09.029
18. Coughlin M.M., Prabhakar B.S. Neutralizing human monoclonal antibodies to severe acute respiratory syndrome coronavirus: target, mechanism of action and therapeutic potential. *Rev. Med. Virol.*, 2012, vol. 22, no. 1, pp. 2–17. doi: 10.1002/rmv.706
19. COVID-19: FDA approves use of convalescent plasma to treat critically ill patients. *BMJ*, 2020, vol. 368: m1256. doi: 10.1136/bmj.m1256
20. Cowling B.J., Park M., Fang V.J., Wu P., Leung G.M., Wu J.T. Preliminary epidemiological assessment of MERS-CoV outbreak in South Korea, May to June 2015 separator commenting unavailable. *Euro Surveill.*, 2015, vol. 20, no. 25. doi: 10.2807/1560-7917.es2015.20.25.21163
21. De Clercq E. Potential antivirals and antiviral strategies against SARS coronavirus infections. *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.*, 2006, vol. 4, no. 2, pp. 291–302. doi: 10.1586/14787210.4.2.291
22. Devaux C.A., Rolain J.M., Colson P., Raoult D., New insights on the antiviral effects of chloroquine against coronavirus: what to expect for COVID-19? *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2020: 105938. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105938
23. Dyall J., Gross R., Kindrachuk J., Johnson R.F., Olinger G.G. Jr, Hensley L.E., Frieman M.B., Jahrling P.B. Middle east respiratory syndrome and severe acute respiratory syndrome: current therapeutic options and potential targets for novel therapies. *Drugs*, 2017, vol. 77, no. 18, pp. 1935–1966. doi: 10.1007/s40265-017-0830-1.
24. Fantini J., Di Scala C., Chahinian H., Yahia N. Structural and molecular modelling studies reveal a new mechanism of action of chloroquine and hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 infection. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2020: 105960. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105960
25. Fehr A.R., Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.*, 2015, vol. 1282, pp. 1–23. doi: 10.1007/978-1-4939-2438-7\_1
26. Feldmann M., Maini R.N., Woody J.N., Holgate S.T., Winter G., Rowland M., Richards D., Hussell T. Trials of anti-tumour necrosis factor therapy for COVID-19 are urgently needed. *Lancet, on line*, 2020 April 09. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30858-8
27. Ferraris O., Moroso M., Pernet O., Emonet S., Rembert A.F., Paranhos-Baccalà G., Peyrefitte C.N. Evaluation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in vitro inhibition by chloroquine and chlorpromazine, two FDA approved molecules. *Antiviral Res.*, 2015, vol. 118, pp. 75–81. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.03.005
28. Fu B., Xu X., Wei H. Why tocilizumab could be an effective treatment for severe COVID-19? *J. Transl. Med.*, 2020, vol. 18, p. 164. doi: 10.1186/s12967-020-02339-3
29. Gao J., Tian Z., Yang X. Breakthrough: chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *BioScience Trends*, 2020, vol. 14, no. 1, pp. 72–73. doi: 10.5582/bst.2020.01047
30. Gautret P., Lagier J.C., Parola P., Hoang V.T., Meddeb L., Mailhe M., Doudier B., Courjon J., Giordanengo V., Vieira V.E., Dupont H.T., Honoré S., Colson P., Chabrière E., La Scola B., Rolain J.M., Brouqui P., Raoult D. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2020. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949
31. Giron C.C., Laaksonen A.F., Barroso da Silva L. On the interactions of the receptor-binding domain of SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 spike proteins with monoclonal antibodies and the receptor ACE2. *bioRxiv*, 2020: 026377. doi: 10.1101/2020.04.05.026377
32. Gralinski L.E., Baric R.S. Molecular pathology of emerging coronavirus infections. *J. Pathol.*, 2015, vol. 235, no. 2, pp. 185–195. doi: 10.1002/path.4454
33. Guo C., Li B., Ma H., Wang X., Cai P., Yu Q., Zhu L., Jin L., Jiang C., Fang J., Liu Q., Zong D. Zhang W., Lu Y., Li K., Gao X., Fu B., Liu L., Ma X., Weng J., Wei H., Jin T., Lin J., Qu K. Tocilizumab treatment in severe COVID-19 patients attenuates the inflammatory storm incited by monocyte centric immune interactions revealed by single-cell analysis. *bioRxiv*, 2020: 029769. doi: 10.1101/2020.04.08.029769
34. Guo Y.R., Cao Q.D., Hong Z.S., Tan Y.Y., Chen S.D., Jin H.J., Tan K.S., Wang D.Y., Yan Y. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak — an update on the status. *Mil. Med. Res.*, 2020, vol. 7, p. 11. doi: 10.1186/s40779-020-00240-0
35. Huang X., Wei F., Hu L., Wen L., Chen K. Epidemiology and clinical characteristics of COVID-19. *Arch. Iran Med.*, 2020, vol. 23, no. 4, pp. 268–271. doi: 10.34172/aim.2020.09.
36. Hussell T., Pennycook A., Openshaw P.J. Inhibition of tumor necrosis factor reduces the severity of virus-specific lung immunopathology. *Eur. J. Immunol.*, 2001, vol. 31, no. 9, pp. 2566–2673. doi: 10.1002/1521-4141(200109)31:9<2566::aid-immu2566>3.0.co;2-1
37. Jaume M., Yip M.S., Kam Y.W., Cheung C.Y., Kien F., Roberts A., Li P.H., Dutry I., Escriou N., Daron M., Bruzzone R., Subbarao K., Peiris J.S.M., Nal B., Altmeyer R. SARS CoV subunit vaccine: antibody-mediated neutralisation and enhancement. *Hong Kong Med. J.*, 2012, vol. 18, suppl. 2, pp. 31–36.
38. Keyaerts E., Vijgen L., Maes P., Neyts J., Van Ranst M. In vitro inhibition of severe acute respiratory syndrome coronavirus by chloroquine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004, vol. 323, no. 1, pp. 264–268. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.08.085
39. Kotch C., Barrett D., Teachey D.T. Tocilizumab for the treatment of chimeric antigen receptor T cell-induced cytokine release syndrome. *Expert Rev. Clin. Immunol.*, 2019, vol. 15, no. 8, pp. 813–822. doi: 10.1080/1744666X.2019.1629904
40. Kuzmina N.A., Younan P., Gilchuk P., Santos R.I., Flyak A.I., Ilinykh P.A., Huang K., Lubaki N.M., Ramanathan P., Crowe J.E. Jr., Bukreyev A. Antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection by human antibodies isolated from survivors. *Cell Rep.*, 2018, vol. 24, no. 7, pp. 1802–1815.e5. doi: 10.1016/j.celrep.2018.07.035

41. Lai C.C., Shih T.P., Ko W.C., Tang H.J., Hsueh P.R. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 2020, vol. 17: 105924. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924
42. Lee S.J., Silverman E., Bargman J.M. The role of antimalarial agents in the treatment of SLE and lupus nephritis. *Nat. Rev. Nephrol.*, 2011, vol. 7, no. 12, pp. 718–729. doi: 10.1038/nrneph.2011.150
43. Letter to authorisation. FDA. USA, 2020, March 28. URL: <https://www.fda.gov/media/136534/download>
44. Li G., Fan Y., Lai Y., Han T., Li Z., Zhou P., Pan P., Wang W., Hu D., Liu X., Zhang Q., Wu J. Coronavirus infections and immune responses. *J. Med. Virol.*, 2020, vol. 92, pp. 424–432. doi: 10.1002/jmv.25685
45. Li H., Liu S.M., Yu X.H., Tang S.L., Tang C.-K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 2020: 105951. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105951.
46. Li X., Geng M., Peng Y., Meng L., Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J. Pharm. Anal.*, 2020 Mar 5. doi: 10.1016/j.jpfa.2020.03.001
47. Lichtenstein L., Ron Y., Kivity S., Ben-Horin S., Israeli E., Fraser G.M., Dotan I., Chowers Y., Confino-Cohen R., Weiss B. Infliximab-related infusion reactions: systematic review. *J. Crohns. Colitis.*, 2015, vol. 9, no. 9, pp. 806–815. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjv096
48. Lo B., Zhang K., Lu W., Zheng L., Zhang Q., Kanellopoulou C., Zhang Y., Liu Z., Fritz J.M., Marsh R., Husami A., Kissell D., Nortman S., Chaturvedi V., Haines H., Young L.R., Mo J., Filipovich A.H., Blessing J.J., Mustillo P., Stephens M., Rueda C.M., Chougnet C.A., Hoebe K., McElwee J., Hughes J.D., Karakoc-Aydiner E., Matthews H.F., Price S., Su H.C., Rao V.K., Lenardo M.J., Jordan M.B. Autoimmune disease. Patients with LRBA deficiency show CTLA4 loss and immune dysregulation responsive to abatacept therapy. *Science*, 2015, vol. 349, no. 6246, pp. 436–440. doi: 10.1126/science.aaa1663
49. Magagnoli J., Narendran S., Pereira F., Cummings T.H., Hardin J.W., Sutton S.S., Ambati J. Outcomes of hydroxychloroquine usage in United States veterans hospitalized with COVID-19. *Med.*, 2020. doi: 10.1016/j.medj.2020.06.001
50. Mair-Jenkins J., Saavedra-Campos M., Baillie J.K., Cleary P., Khaw F.M., Lim W.S., Makki S., Rooney K.D., Convalescent Plasma Study Group, Nguyen-Van-Tam J.S., Beck C.R. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J. Infect. Dis.*, 2015, vol. 211, no. 1, pp. 80–90. doi: 10.1093/infdis/jiu396
51. Malavolta M., Giacconi R., Brunetti D., Provinciali M., Maggi F. Exploring the Relevance of senotherapeutics for the current SARS-CoV-2 emergency and similar future global health threats. *Cells*, 2020, vol. 9, no. 4: E909. doi: 10.3390/cells9040909
52. Mason R.J. Pathogenesis of COVID-19 from a cell biology perspective. *Eur. Respir. J.*, 2020, vol. 55, no. 4: 2000607. doi: 10.1183/13993003.00607-2020
53. Masters P.S. The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Vir. Res.*, 2006, vol. 66, pp. 193–292. doi: 10.1016/S0065-3527(06)66005-3
54. McCreary E.K., Pogue J.M. Coronavirus disease 2019 treatment: a review of early and emerging options. *Open Forum Infect. Dis.*, 2020, vol. 7, no. 4: ofaa105. doi: 10.1093/ofid/ofaa105
55. Mi L., Li W., Li M., Chen T., Wang M., Sun L., Chen Z. Immunogenicity screening assay development for a novel human-mouse chimeric anti-CD147 monoclonal antibody (Metuzumab). *J. Immunol. Methods*, 2016, vol. 433, pp. 38–43. doi: 10.1016/j.jim.2016.02.022
56. Moss I.B., Moss M.B., dos Reis D.S., Coelho R.M. Immediate infusional reactions to intravenous immunobiological agents for the treatment of autoimmune diseases: experience of 2126 procedures in a non-oncologic infusion centre. *Rev. Bras. Reumatol.*, 2014, vol. 54, no. 2, pp. 102–109.
57. Mourad A.A., Boktor M.N., Yilmaz-Demirdag Y., Bahna S.L. Adverse reactions to infliximab and the outcome of desensitization. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2015, vol. 115, no. 2, pp. 143–146. doi: 10.1016/j.anaai.2015.06.004
58. Paton N.I., Lee L., Xu Y., Ooi E.E., Cheung Y.B., Archuleta S., Wong G., Wilder-Smith A. Chloroquine for influenza prevention: a randomised, double-blind, placebo controlled trial. *Lancet Infect. Dis.*, 2011, vol. 11, no. 9, pp. 677–683. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70065-2
59. Pelegrin M., Naranjo-Gomez M., Piechaczyk M. Antiviral monoclonal antibodies: can they be more than simple neutralizing agents? *Trends Microbiol.*, 2015, vol. 23, no. 10, pp. 653–665. doi: 10.1016/j.tim.2015.07.005
60. Pereira B.B. Challenges and cares to promote rational use of chloroquine and hydroxychloroquine in the management of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pandemic: a timely review. *J. Toxicol. Environ. Health. B Crit. Rev.*, 2020, vol. 23, no. 4, pp. 177–181. doi: 10.1080/10937404.2020.1752340
61. Rajeshkumar N.V., Yabuuchi S., Pai S.G., Maitra A., Hidalgo M., Dang C.V. Fatal toxicity of chloroquine or hydroxychloroquine with metformin in mice. *bioRxiv*, 2020.03.31.018556. doi: 10.1101/2020.03.31.018556
62. Rawaf S., Al-Saffar M.N., Quezada-Yamamoto H., Alshaikh M., Pelly M., Rawaf D., Dubois E., Majeed A. Chloroquine and hydroxychloroquine effectiveness in human subjects during coronavirus: a systematic review. *medRxiv*, 2020: 47403194. doi: 10.1101/2020.05.07.20094326.t
63. Roback J.D., Guarner J. Convalescent plasma to treat COVID-19: possibilities and challenges. *JAMA*, 2020 Mar 27. doi: 10.1001/jama.2020.4940
64. Russell B., Moss C., George G., Santaolalla A., Cope A., Papa S., Van Hemelrijck M. Associations between immunosuppressive and stimulating drugs and novel COVID-19 — a systematic review of current evidence. *Ecancermedicalscience*, 2020, vol. 14: 1022. doi: 10.3332/ecancer.2020.1022
65. Savarino A., Boelaert J.R., Cassone A., Majori G., Cauda R. Effects of chloroquine on viral infections: an old drug against today's diseases? *Lancet Infect. Dis.*, 2003, no. 11, pp. 722–727. doi: 10.1016/s1473-3099(03)00806-5
66. Savarino A., Gennaro L., Sperber K., Boelaert J.R. The anti-HIV-1 activity of chloroquine. *J. Clin. Virol.*, 2001, vol. 20, no. 3, pp. 131–135. doi: 10.1016/s1386-6532(00)00139-6.
67. Şencan I., Kuzi S. Global threat of COVID 19 and evacuation of the citizens of different countries. *Turk. J. Med. Sci.*, 2020, vol. 50, no. SI-1, pp. 534–543. doi: 10.3906/sag-2004-21
68. Shang B., Wang X.Y., Yuan J.W., Vabret A., Wu X.D., Yang R.F., Tian L., Ji Y.Y., Deubel V., Suna B. Characterization and application of monoclonal antibodies against N protein of SARS-coronavirus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, vol. 336, no. 1, pp. 110–117. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.08.032

69. Shanmugaraj B., Siri wattananon K., Wangkanont K., Phoolcharoen W. Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 2020, vol. 38, no. 1, pp. 10–18. doi: 10.12932/AP-200220-0773
70. Sheppard M., Laskou F., Stapleton P.P., Hadavi S., Dasgupta B. Tocilizumab (Actemra). *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2017, vol. 13, no. 9, pp. 1972–1988. doi: 10.1080/21645515.2017.1316909
71. Singh S., Moore T.J. Efficacy and safety of hydroxychloroquine and chloroquine for COVID-19: a systematic review. *medRxiv*, 2020: 20106906. doi: 10.1101/2020.05.19.20106906
72. Siu K.L., Yuen K.S., Castañero-Rodríguez C., Ye Z.W., Yeung M.L., Fung S.Y., Yuan S., Chan C.P., Yuen K.Y., Enjuanes L., Jin D.-Y. Severe acute respiratory syndrome coronavirus ORF3a protein activates the NLRP3 inflammasome by promoting TRAF3-dependent ubiquitination of ASC. *FASEB J.*, 2019, vol. 33, no. 8, pp. 8865–8877. doi: 10.1096/fj.201802418R
73. Smits S.L., de Lang A., van den Brand J.M.A., Leijten L.M., van IJcken W.F., Eijkemans M.J.C., van Amerongen G., Kuiken T., Andeweg A.C., Osterhaus A.D.M.E., Haagmans B.L. Exacerbated innate host response to SARS-CoV in aged non-human primates. *PLoS Pathog.*, 2010, vol. 6, no. 2: e1000756. doi: 10.1371/journal.ppat.1000756
74. Sohrabi C., Alsafi Z., O'Neill N., Khan M., Kerwan A., Al-Jabir A., Iosifidis C., Agha R. World health organization declares global emergency: a review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). *Int. J. Surg.*, 2020, vol. 76, pp. 71–76. doi: 10.1016/j.ijsu.2020.02.034C
75. Su L., Ma X., Yu H., Zhang Z., Bian P., Han Y., Sun J., Liu Y., Yang C., Geng J., Zhang Z., Gai Z. The different clinical characteristics of corona virus disease cases between children and their families in China — the character of children with COVID-19. *Emerg. Microbes Infect.*, 2020, vol. 9, no. 1 pp. 707–713. doi: 10.1080/22221751.2020.1744483
76. Tetro J.A. Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses? *Microb. Infect.*, 2020, vol. 22, iss. 2, pp. 72–73. doi: 10.1016/j.micinf.2020.02.006
77. Tian X., Li C., Huang A., Xia S., Lu S., Shi Z., Lu L., Jiang S., Yang Z., Wu Y., Yinga T. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg. Microbes Infect.*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 382–385. doi: 10.1080/22221751.2020.1729069
78. Traggiai E., Becker S., Subbarao K., Kolesnikova L., Uematsu Y., Gismondo M.R., Murphy B.R., Rappuoli R., Lanzavecchia A. An efficient method to make human monoclonal antibodies from memory B cells: potent neutralization of SARS coronavirus. *Nat. Med.*, 2004, vol. 10, no. 8, pp. 871–875. doi: 10.1038/nm1080
79. Velavan T.P., Meyer C.G. The COVID-19 epidemic. *Trop. Med. Int. Health.*, 2020, vol. 25, no.3, pp. 278–280. doi: 10.1111/tmi.13383
80. Vincent M.J., Bergeron E., Benjannet S., Erickson B.R., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Seidah N.G., Nichol S.T. Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. *Virology*, 2005, vol. 2: 69. doi: 10.1186/1743-422X-2-69
81. Wang C., Li W., Drabek D., Okba N.M.A., van Haperen R., Osterhaus A.D.M.E., van Kuppeveld F.J.M., Haagmans B.L., Grosveld F., Bosch B.-J. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat. Commun.*, 2020, vol. 11: 2251. doi: 10.1101/2020.03.11.987958
82. Wang G., Lu C.J., Trafford A.W., Tian X., Flores H.M., Maj P., Zhang K., Niu Y., Wang L., Du Y., Ji X., Xu Y., Wu L., Li D., Herring N., Paterson D., Huang C.L.-H., Zhang H., Lei M., Hao G. Mechanistic insights into ventricular arrhythmogenesis of hydroxychloroquine and azithromycin for the treatment of COVID-19. *bioRxiv*, 2020.05.21.108605. doi: 10.1101/2020.05.21.108605
83. Wang H., Yang P., Liu K., Guo F., Zhang Y., Zhang G. SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway. *Cell Res.*, 2008, vol. 18, no. 2, pp. 290–301. doi: 10.1038/cr.2008.15
84. Wang J., Hajizadeh N., Moore E.E., McIntyre R.C., Moore P.K., Veress L.A., Yaffe M.B., Moore H.B., Barrett C.D. Tissue plasminogen activator (tPA) treatment for COVID-19 associated acute respiratory distress syndrome (ARDS): a case series. *J. Thromb. Haemost.*, 2020 Apr 8. doi: 10.1111/jth.14828
85. Wang K., Chen W., Zhou Y.S., Lian J.Q., Zhang Z., Du P., Gong L., Zhang Y., Cui H.Y., Geng J.J., Wang B., Sun X.-X., Wang C.F., Yang X., Lin P., Deng Y.Q., Wei D., Yang X.M., Zhu Y.M., Zhang K., Zheng Z.H., Miao J.L., Guo T., Si Y., Zhang J., Fu L., Wang Q.Y., Bian H., Zhu P., Chen Z.-N. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein. *bioRxiv*, 2020.03.14.988345. doi: 10.1101/2020.03.14.988345
86. Wong S.K., Li W., Moore M.J., Choe H., Farzan M.A. 193-amino acid fragment of the SARS coronavirus S protein efficiently binds angiotensin-converting enzyme 2. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, pp. 3197–201. doi: 10.1074/jbc.C300520200
87. Wu P., Hao X., Lau E.H.Y., Wong J.Y., Leung K.S.M., Wu J.T., Cowling B.J., Leung G.M. Real-time tentative assessment of the epidemiological characteristics of novel coronavirus infections in Wuhan, China, as at 22 January 2020. *Euro Surveill.*, 2020, vol. 25, no. 3: 2000044. doi: 10.2807/1560
88. Xiong L., Edwards III C.K., Zhou L. The biological function and clinical utilization of CD147 in human diseases: a review of the current scientific literature. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, vol. 15, no. 10, pp. 17411–17441. doi: 10.3390/ijms151017411
89. Yang X., Yu Y., J. Xu, Shu H., Xia J., Liu H., Wu Y., Zhang L., Yu Z., Fang M., Yu T., Wang Y., Pan S., Zou X., Yuan S., Shang Y. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet*, 2020, Feb 24. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5
90. Yao X., Ye F., Zhang M., Cui C., Huang B., Niu P., Liu X., Zhao L., Dong E., Song C., Zhan S., Lu R., Li H., Tan W., Liu D. In vitro antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin. Infect. Dis.*, 2020: ciaa237. doi: 10.1093/cid/ciaa237
91. Ye H., Wang X., Yuan X., Xiao G., Wang C., Deng T., Yuan Q., Xiao X. The epidemiology and clinical information about COVID-19. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2020, pp. 1–9. doi: 10.1007/s10096-020-03874-z
92. Ye Q., Wang B., Mao J. The pathogenesis and treatment of the “Cytokine Storm” in COVID-19. *J. Infect.*, 2020, vol. 80, iss. 6, pp. 607–613. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.037
93. Yeh K.M., Chiueh T.S., Siu L.K., Lin J.C., Chan P.K.S., Peng M.Y., Wan H.L., Chen J.H., Hu B.S., Perng C.L., Lu J.J., Chang F.-Y. Experience of using convalescent plasma for severe acute respiratory syndrome among healthcare workers in a Taiwan hospital. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005, vol. 56, no. 5, pp. 919–922. doi: 10.1093/jac/dki346

94. Yin S., Huang M., Li D., Tang N. Difference of coagulation features between severe pneumonia induced by SARS-CoV2 and non-SARS-CoV2. *J. Thromb. Thrombolysis*, 2020, vol. 3, pp. 1–4. doi: 10.1007/s11239-020-02105-8
95. Yip M.S., Leung N.H.L., Cheung C.Y., Li P.H., Lee H.H.Y., Daëron M., Peiris J.S.M., Bruzzone R., Jaume M. Antibody-dependent infection of human macrophages by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Virology*, 2014, vol. 11, p. 82. doi: 10.1186/1743-422X-11-82
96. Yong C.Y., Ong H.K., Yeap S.K., Ho K.L., Tan W.S. Recent advances in the vaccine development against middle east respiratory syndrome-coronavirus. *Front. Microbiol.*, 2019, vol. 10, p. 1781. doi: 10.3389/fmicb.2019.01781
97. Zhai P., Ding Y., Wu X., Long J., Zhong Y., Lie Y., The epidemiology, diagnosis and treatment of COVID-19. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 2020: 105955. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105955
98. Zhang W., Zhao Y., Zhang F., Wang Q., Li T., Liu Z., Wang J., Qin Y., Zhang X., Yan X., Zeng X., Zhang S. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): the experience of clinical immunologists from China. *Clin. Immunol.*, 2020: 108393. doi: 10.1016/j.clim.2020.108393
99. Zhang Z.W., Xu X.C., Liu T., Yuan S. Mitochondrion-permeable antioxidants to treat ros-burst-mediated acute diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2016, vol. 2016: 6859523. doi: 10.1155/2016/6859523n
100. Zheng Z., Monteil V.M., Maurer-Stroh S., Yew C.W., Leong C., Mohd-Ismail N.K., Arularasu S.C., Chow V.T.K., Pin R.L.T., Mirazimi A., Hong W., Tan Y.-J. Monoclonal antibodies for the S2 subunit of spike of SARS-CoV cross-react with the newly-emerged SARS-CoV-2. *bioRxiv*, 2020: 980037. doi: 10.1101/2020.03.06.980037
101. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., Xiang J., Wang Y., Song B., Gu X., Guan L., Wei Y., Li H., Wu X., Xu J., Tu S., Zhang Y., Chen H., Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10229, pp. 1054–1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3
102. Zhou G., Zhao Q. Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Int. J. Biol. Sci.*, 2020, vol. 16, no. 10, pp. 1718–1723. doi: 10.7150/ijbs.45123
103. Zhou W.K., Wang A.L., Xia F., Xiao Y.N., Tang S.Y. Effects of media reporting on mitigating spread of COVID-19 in the early phase of the outbreak. *Math. Biosci. Eng.*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 2693–2707. doi: 10.3934/mbe.2020147

**Авторы:**

**Смирнов В.С.**, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия, главный научный сотрудник АО МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия;  
**Тотолян Арег А.**, академик РАН, д.м.н., профессор, зав. кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО Первый СанктПетербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия; директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Smirnov V.S.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Laboratory Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Head Researcher, JSC MBSPC “Cytomed”, St. Petersburg, Russian Federation;  
**Totolian Areg A.**, RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 25.04.2020  
 Принята к печати 06.05.2020

Received 25.04.2020  
 Accepted 06.05.2020

# COVID-19 И ВАКЦИНАЦИЯ БЦЖ: ЕСТЬ ЛИ СВЯЗЬ?

И.В. Лядова<sup>1,2</sup>, А.А. Стариков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

**Резюме.** Распространение новой коронавирусной инфекции COVID-19 делает актуальным поиск новых эффективных путей предупреждения инфекции. В качестве одного из возможных подходов недавно было предложено проведение вакцинации уязвимых групп населения вакциной БЦЖ. БЦЖ (*Mycobacterium bovis*, Bacillus Calmette–Guérin), живая вакцина против туберкулеза, применяется во многих странах с высоким бременем туберкулеза и увеличивает протекцию у детей, в первую очередь, от милиарного туберкулеза и туберкулезного менингита. Вопрос, может ли вакцина от туберкулеза увеличить уровень протекции против COVID-19, является предметом научных споров. В обзоре рассматриваются научные предпосылки возможного влияния БЦЖ на протективный иммунитет против вируса, вызывающего COVID-19. Вакцина БЦЖ способна индуцировать гетерологичный и «тренированный» иммунитет, ее способность стимулировать противовирусный иммунный ответ показана в экспериментах на животных и в клинических исследованиях. Проведенное нами сравнение динамики роста заболеваемости и смертности от COVID-19 в странах с разной политикой по вакцинации БЦЖ показало более благоприятное течение COVID-19 (более медленную динамику роста заболеваемости и смертности) в странах с обязательной БЦЖ-вакцинацией всего населения. Однако ассоциация между вакцинацией БЦЖ и более мягким течением COVID-19 может быть непрямой. В статье обсуждаются другие факторы, которые могут обуславливать наличие этой ассоциации, такие как уровень тестирования, жесткость и скорость принятия карантинных мер и другие. Важным аргументом против участия БЦЖ в протекции против COVID-19 является то, что вакцина используется в детстве и вряд ли может обеспечивать длительное поддержание иммунитета. Поскольку политика обязательной БЦЖ-вакцинации применяется в странах с высоким бременем ТБ и поскольку в этих странах распространена латентная туберкулезная инфекция, мы предлагаем гипотезу, согласно которой в поддержание гетерологичного/тренированного противовирусного иммунитета в странах с обязательной политикой БЦЖ-вакцинации может вносить вклад латентная туберкулезная инфекция. В четырех странах недавно были начаты клинические исследования по изучению возможности повышения уровня протекции против COVID-19 в уязвимых группах населения путем вакцинации БЦЖ. Результаты этих исследований, а также эпидемиологическое моделирование COVID-19 помогут оценить влияние БЦЖ на уровень противовирусного иммунитета. Проведение подобных клинических исследований в России представляется целесообразным и научно обоснованным.

**Ключевые слова:** COVID-19, вакцина БЦЖ, гетерологичный иммунитет, тренированный иммунитет, вакцинация.

---

**Адрес для переписки:**

Лядова Ирина Владимировна  
119334, Россия, Москва, ул. Вавилова, 26,  
ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН.  
Тел.: 8 (499) 135-87-80. Факс: 8 (499) 135-80-12.  
E-mail: ivlyadova@mail.ru

**Contacts:**

Irina V. Lyadova  
119334, Russian Federation, Moscow, Vavilova str., 26,  
Koltzov Institute of Developmental Biology.  
Phone: +7 (499) 135-87-80. Fax: +7 (499) 135-80-12.  
E-mail: ivlyadova@mail.ru

**Библиографическое описание:**

Лядова И.В., Стариков А.А. COVID-19 и вакцинация БЦЖ: есть ли связь? // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 459–468.  
doi: 10.15789/2220-7619-CAB-1472

**Citation:**

Lyadova I.V., Staricov A.A. COVID-19 and BCG vaccine: is there a link? // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 459–468. doi: 10.15789/2220-7619-CAB-1472

Выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2020 года № 0108-2019-0004  
The work was conducted under the IDB RAS Government basic research program in 2020 No. 0108-2019-0004

## COVID-19 AND BCG VACCINE: IS THERE A LINK?

Lyadova I.V.<sup>a,b</sup>, Staricov A.A.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** The spread of the novel coronavirus infection (COVID-19) makes the search for new approaches to prevent the infection of great importance. As one of the relevant approaches, the vaccination of risk groups with BCG vaccine has recently been suggested. BCG (*Mycobacterium bovis*, Bacillus Calmette–Guérin) is a live vaccine for tuberculosis, which is used in many countries with a high tuberculosis prevalence and helps preventing childhood tuberculosis, primarily, military disease and tuberculosis meningitis. Whether BCG may be used to increase the protection against COVID-19 is currently a question of debates. The review considers scientific background underlying possible impact of BCG in increased protection against COVID-19. BCG is able of inducing the heterologous and trained immunity, and its capacity to stimulate antiviral immune response has been demonstrated in experimental animals and humans. Our comparison of the dynamics of COVID-19 morbidity and mortality in countries with different BCG vaccination policies has demonstrated a milder course of COVID-19 (i.e., a slower increase in disease cases and mortality) in countries where BCG vaccination is mandatory for all children. However, an association between BCG vaccination and a milder COVID-19 course is not obligatory direct. Other factors that may affect the association, such as the level of virus testing, the rigidity and the speed of quarantine implementation and others are discussed. An important argument against a role of BCG in the protection against COVID-19 is that BCG is given in childhood and may hardly induce long-lasting immunity. Because mandatory BCG vaccination is implemented in countries with high TB burden and because in these countries latent tuberculosis infection is widely spread, we suggest a hypothesis that latent tuberculosis infection may contribute to the maintenance of heterologous/trained antiviral immunity in countries with mandatory BCG vaccination. Four countries have recently initiated clinical trials to investigate whether BCG vaccination can increase the level of protection against COVID-19 in risk groups. The results of these studies, as well as COVID-19 epidemiological modeling will help understanding the impact of BCG in the level of the protection against COVID-19. Performing analogous clinical trials in Russia seems appropriate and scientifically sound.

**Key words:** COVID-19, BCG vaccine, heterologous immunity, trained immunity, vaccination.

В последнее время в научных и общественных кругах широко дискутируется вопрос о возможном вкладе вакцинации БЦЖ в защиту от новой коронавирусной инфекции COVID-19 (заболевание, вызываемое коронавирусом-19, coronavirus disease 2019), вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2). В статье рассматриваются литературные данные, результаты собственного анализа, а также иммунологические предпосылки к способности вакцины БЦЖ влиять на противовирусный иммунитет и возможные практические выводы.

**Эпидемиологические данные.  
Различная динамика заболеваемости  
и смертности в странах с разной  
политикой БЦЖ-вакцинации**

Имеющиеся к настоящему времени сведения о заболеваемости и смертности от COVID-19 в разных странах [7] и о страновой политике по вакцинации БЦЖ [24] позволяют провести анализ взаимосвязи между этими показателями. Рядом авторов [1, 19; Barteneva, Lyadova, Vorobjev, подана в печать] была показана более низкая заболеваемость и смертность от COVID-19 в странах с политикой обязательной БЦЖ-

There is currently a lively debate across research and public communities regarding a possible contribution of the BCG vaccination towards protection against the new COVID-19 coronavirus infection (coronavirus disease 2019), caused by the coronavirus SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2). This article discusses the research data available in this area, the results of our own analysis, as well as the immunological prerequisites for the ability of the BCG vaccine to affect antiviral immunity and possible practical conclusions.

**Epidemiological data. Different dynamics  
of morbidity and mortality in countries  
with different BCG vaccination policies**

The currently available data on COVID-19 morbidity and mortality in different countries [7] and on the respective national BCG vaccination policies [24] allow us to analyze the relationship between these indicators. A number of authors [1, 19; Barteneva, Lyadova, Vorobjev, submitted for publication] showed a lower COVID-19 morbidity and mortality in countries with a mandatory BCG vaccination policy for the entire population (BCG<sup>+</sup> countries), compared to countries using the BCG vaccination for certain population groups only

вакцинации всего населения (страны БЦЖ<sup>+</sup>) по сравнению с другими странами — применяющими БЦЖ-вакцинацию только для отдельных групп населения (страны БЦЖ<sup>-</sup>) или ранее применявшими обязательную БЦЖ-вакцинацию всего населения, но отменившими ее (страны БЦЖ<sup>+/-</sup>). В частности, Miller и соавт. [19] показали более высокую смертность от COVID-19 в странах БЦЖ<sup>-</sup> по сравнению со странами БЦЖ<sup>+</sup>. А. Илларионов [1] проанализировал заболеваемость и смертность в группах стран, объединенных по общим принципам политики БЦЖ-вакцинации. Предполагая, что уровень заболеваемости связан с уровнем популяционного иммунитета, а смертности — с уровнем индивидуального иммунитета, автор на основе проведенного анализа сделал заключение, что обязательная вакцинация БЦЖ, проводимая в настоящем, обеспечивает наиболее высокий уровень популяционного и индивидуального иммунитета; обязательная иммунизация населения, проводимая в прошлом, но затем прекращенная, не создает устойчивого иммунитета для всей популяции, но обеспечивает определенный уровень индивидуального иммунитета, а селективная вакцинация только отдельных групп населения, проводимая в настоящем, не создает устойчивого иммунитета ни на популяционном, ни на индивидуальном уровне.

Мы провели анализ динамики заболеваемости и смертности от COVID-19 индивидуально по странам. В анализ были включены страны, в которых общее количество случаев COVID-19, зарегистрированных по состоянию на 21 апреля 2020 г., достигало 2000 и более (59 стран, [7]). Данные по заболеваемости и смертности в разных странах были нормированы относительно первого дня, в который количество зарегистрированных случаев COVID-19 превысило 0,7 на 1 млн населения («нормированный день 0»). Относительно этого дня были проанализированы кривые заболеваемости и смертности. В анализ включали данные, полученные в течение 24 дней от нормированного дня 0, что позволило обеспечить одинаковую длительность наблюдения за всеми странами (исключение составил Бангладеш, для которого по состоянию на 21 апреля 2020 г. имелись наблюдения только в течение 16 дней от нормированного дня 0). Анализ кривых заболеваемости показал, что медленная динамика прироста количества заболевших отмечалась только в странах БЦЖ<sup>+</sup> (за исключением Австралии, которая также характеризовалась медленной динамикой роста заболеваемости, но в которой обязательная БЦЖ-вакцинация была прекращена в 1985 г., рис., А, вклейка, с. III). Средний темп роста заболеваемости отмечался почти исключительно в странах БЦЖ<sup>+</sup>

(BCG<sup>-</sup> countries) or countries previously applying a mandatory BCG vaccination to the entire population, but subsequently canceling this policy (BCG<sup>+/-</sup> countries). In particular, Miller et al. [19] showed a higher COVID-19 mortality rate in BCG<sup>-</sup> countries compared to BCG<sup>+</sup> countries. A. Illarionov [1] analyzed morbidity and mortality in groups of countries united by the general principles of their respective BCG vaccination policies. Assuming that the morbidity rate is related to the level of population immunity and that the mortality rate is linked to the level of individual immunity, the author concluded, on the basis of his analysis, that a mandatory BCG vaccination currently administered provides the highest level of population and individual immunity; a mandatory immunization of the population in the past, which was subsequently terminated, does not create a stable immunity for the entire population, but provides a certain level of individual immunity; while a selective vaccination of specific population groups only, currently carried out, does not create a stable immunity either at the population level or at the individual level.

We have analyzed the dynamics of COVID-19 morbidity and mortality for individual countries. The analysis included countries in which the total number of COVID-19 cases recorded as of April 21, 2020 reached 2,000 or more (59 countries, [7]). Data on morbidity and mortality in different countries were normalized relative to the first day on which the number of reported cases of COVID-19 exceeded 0.7 per one million people (“normalized day 0”). In relation to this day, the morbidity and mortality curves were analyzed. The analysis included data obtained within 24 days from normalized day 0, which allowed for the same monitoring period for all countries (with the exception of Bangladesh, for which, as of April 21, 2020, there were data only for 16 days from normalized day 0). An analysis of the morbidity curves showed that a slow increase in the number of disease cases was observed only in BCG<sup>+</sup> countries (with the exception of Australia, which was also characterized by a slow morbidity growth, but in which the mandatory BCG vaccination was discontinued in 1985, fig., A, color plate, p. III). A moderate morbidity growth was observed almost exclusively in BCG<sup>+</sup> and BCG<sup>+/-</sup> countries. Almost all the countries of the BCG<sup>-</sup> group had a fast morbidity growth (4 out of 5 countries, Canada was classified as a BCG<sup>-</sup> country, although a mandatory BCG vaccination was used in some of its provinces before 1965). Similar results were obtained when analyzing the dynamics of the increase in COVID-19 mortality (fig., B, color plate, p. III).

The obtained results convincingly indicate the existence of a relationship between a relatively low COVID-19 morbidity and mortality and a mandatory BCG vaccination policy (hereinafter referred to as the COVID-BCG association). However, mor-

и БЦЖ<sup>+/-</sup>. Почти все страны группы БЦЖ<sup>-</sup> имели быстрый темп роста заболеваемости (4 из 5 стран, Канада была отнесена к странам БЦЖ<sup>-</sup>, хотя до 1965 г. в части ее провинций применялась обязательная БЦЖ-вакцинация). Близкие результаты были получены и при анализе динамики увеличения смертности от COVID-19 (рис., Б, вклейка, с. III).

Полученные результаты убедительно свидетельствуют о существовании связи между относительно низким уровнем заболеваемости и смертности от COVID-19 и политикой обязательной БЦЖ-вакцинации (далее обозначено как ассоциация «COVID-BCG»). Однако заболеваемость и смертность являются многофакторными показателями. Вероятно существование ряда других факторов, влияющих на заболеваемость и смертность от COVID-19, которые могут быть косвенно связаны с политикой по БЦЖ вакцинации и создавать видимость ассоциации «COVID-BCG».

Одним из таких факторов является уровень и качество тестирования на SARS-CoV-2. Многие страны, в которых БЦЖ-вакцинация входит в Национальные календари прививок, относятся к странам с низким и ниже среднего уровнем дохода на душу населения. Это может находить отражение в более низком охвате тестированием и создавать видимость более благополучной ситуации по COVID-19 в странах БЦЖ<sup>+</sup>. Это объяснение, однако, не может лежать в основе медленной динамики заболеваемости и смертности в таких странах, как, например, Сингапур, где охват тестированием на 1 млн населения сопоставим с таковым в США и Бельгии [7] и не подтверждается данными Miller и соавт. [19].

Другим важным фактором является скорость принятия и жесткость карантинных мер. Нельзя исключить наличие связи между этим показателем и политикой по БЦЖ-вакцинации, поскольку оба показателя зависят от исторически сложившихся особенностей организации эпидемиологических служб и систем здравоохранения.

Еще одним фактором могут являться межстрановые различия по распространенности коморбидных заболеваний, влияющих на течение COVID-19, в частности, ожирения, сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний [5, 17]. Для части этих заболеваний (например, для онкологических) показана зависимость распространенности от уровня дохода на душу населения (ассоциированного с распространенностью туберкулеза, а следовательно, и с политикой по БЦЖ-вакцинации) [22], что косвенно может вносить вклад в зависимость «COVID-BCG». Связь других заболеваний с уровнем дохода более сложная [12].

morbidity and mortality are multifactorial indicators. It is likely that there are a number of other factors affecting COVID-19 morbidity and mortality, which may be indirectly related to BCG vaccination policies and which may merely present the appearance of a COVID-BCG association.

One of such factors is constituted by the level and quality of testing for SARS-CoV-2. Many countries where the BCG vaccination is included in National Vaccination Calendars are countries with low and lower middle per capita income. This may be reflected in a lower test coverage and create the appearance of a more favorable COVID-19 situation in BCG<sup>+</sup> countries. This explanation, however, cannot underlie the slow dynamics of morbidity and mortality in countries such as, for example, Singapore, where test coverage per million people is comparable to that in the USA and Belgium [7] and is not supported by data from Miller et al. [19].

Another important factor is constituted by the speed and rigor with which quarantine measures are implemented. It cannot be ruled out that there is a connection between this indicator and BCG vaccination policy, since both indicators depend on the historical features of the way epidemiological services and health systems are organized.

Another factor may be cross-country differences in the prevalence of comorbid conditions that affect the course of COVID-19, in particular, obesity, as well as cardiovascular and oncological diseases [5, 17]. For some of these conditions (for example, for oncological diseases), the prevalence is shown to be dependent on per capita income (the latter is associated with the prevalence of tuberculosis and, therefore, with BCG vaccination policy) [22], which may indirectly contribute to the COVID-BCG association. The relationship between other diseases and income is more complex [12].

In general, there is a clear connection between a mandatory BCG vaccination policy and a more favourable COVID-19 course. Does BCG play a direct role in the formation of antiviral immunity? Clinical trials (CT), mathematical modeling of the epidemiological process with the inclusion of various factors, in addition to the BCG vaccination, as well as an analysis of fundamental data on the effect of BCG on the immune response are of great importance in answering this question.

## Scientific background. The effect of BCG on antiviral immunity

It is well known that the protective ability of vaccines results from the induction of the formation of antigen-specific immune memory cells, which ensure the development of a faster and more pronounced immune response during a subsequent infection of the host with the corresponding pathogen.

В целом, прослеживается четкая связь между политикой обязательной БЦЖ-вакцинации и более благоприятным течением COVID-19. Играет ли БЦЖ непосредственную роль в формировании противовирусного иммунитета? Большое значение для ответа на этот вопрос имеет проведение клинических исследований (КИ), математическое моделирование эпидемиологического процесса с включением в модель разнообразных факторов, помимо БЦЖ-вакцинации, а также анализ фундаментальных данных о влиянии БЦЖ на иммунный ответ.

## Научные предпосылки. Влияние БЦЖ на противовирусный иммунитет

Хорошо известно, что протективная способность вакцин обусловлена индукцией образования антигенспецифичных клеток иммунологической памяти, обеспечивающих развитие более быстрого и выраженного иммунного ответа при последующем инфицировании организма соответствующим патогеном. Однако исследования последних лет показывают, что вакцины (и предшествующие инфекции) могут влиять на иммунный ответ и изменять течение инфекционных заболеваний, вызванных другими, «посторонними» патогенами, то есть индуцировать так называемый гетерологичный иммунный ответ. В основе гетерологичного иммунитета могут лежать разные механизмы. На уровне Т-лимфоцитов они включают кросс-реактивность образуемых Т-лимфоцитов, изменение иерархии иммунодоминантных эпитопов при последующем инфицировании, фоновую («bystander») цитокинопосредованную и TCR-независимую активацию лимфоцитов, специфичных к «посторонним» антигенам [18]. Все перечисленные эффекты описаны для БЦЖ. БЦЖ обладает выраженным адъювантным эффектом и способностью смешать иммунный ответ в сторону Т-хелперного ответа 1 типа. Это является основой для «фоновой» стимуляции Т-лимфоцитов посторонней специфичности. Показано, что БЦЖ может индуцировать образование лимфоцитов Th1 и Th17, специфичных к «посторонним» патогенам [6, 14]; у мышей вакцинация БЦЖ индуцировала гетерологичный иммунитет по отношению к инфекции *Vaccinia virus*, который проявлялся в снижении вирусной нагрузки при инфицировании животных вирусом и был опосредован IFN $\gamma$ -продуцирующими лимфоцитами CD4 [18].

Другим механизмом является индукция так называемого тренированного иммунитета (trained immunity) [21]. Концепция тренированного иммунитета определяет его как

However, various studies of recent years show that vaccines (and previous infections) can affect the immune response and change the course of infectious diseases caused by other, “unrelated” pathogens, i.e. induce a so-called heterologous immune response. Heterologous immunity can be based on different mechanisms. At the level of T-lymphocytes, these mechanisms include cross-reactivity of the formed T-lymphocytes, a change in the hierarchy of immunodominant epitopes upon subsequent infection, and background (bystander) cytokine-mediated and TCR-independent activation of lymphocytes specific for “unrelated” antigens [18]. All of these effects have been described for BCG. BCG has a pronounced adjuvant effect and the ability to shift the immune response towards the type 1 T helper response. This is the basis for a “background” stimulation of T-lymphocytes of unrelated specificity. It was shown that BCG can induce the formation of Th1 and Th17 lymphocytes specific for “unrelated” pathogens [6, 14]; in mice, the BCG vaccination induced a heterologous immunity against a *Vaccinia virus* infection. This type of immunity manifested itself in a decrease in viral load upon the infection of the animals with the virus and was mediated by IFN $\gamma$ -producing CD4 lymphocytes [18].

Another mechanism is the induction of the so-called trained immunity [21]. The concept of trained immunity is defined as the body’s ability to develop an enhanced immune response mediated by cells of innate immunity in a secondary infection caused by the same or another microorganism. It has been shown that in adults after BCG vaccination, monocytes acquire the characteristics of “trained” cells, which is manifested in the form of an increased expression of a number of surface markers (CD14, TLR4) and the production of pro-inflammatory cytokines [4, 9, 15, 27]. In experimental mice models, BCG provided a protective response to “unrelated” infections [15, 27], although not to all of them [9]. An increase in the level of pro-inflammatory cytokine production after the BCG vaccination has also been shown for NK cells [16]. It is customary to associate these effects of BCG with epigenetic reprogramming of innate immune cells, in particular, with the modification of histones associated with TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  and TLR4 genes, as well as with metabolic shifts in cells, in particular, with a shift in metabolism from oxidative phosphorylation to aerobic glycolysis [3, 6]). In clinical studies, the BCG vaccine reduced the viral load upon infection with an attenuated strain of the yellow fever virus. The protective effect was associated with epigenetic reprogramming of innate immune cells and the induction of a “trained” immunity; a decrease in viremia was associated with an increased production of IL-1 $\beta$  [4].

Epidemiological studies provide evidence for the ability of BCG to increase the level of protection

способность организма развивать усиленный иммунный ответ, опосредованный клетками врожденного иммунитета, при вторичной инфекции, вызванной тем же или другим микроорганизмом. Показано, что у взрослых людей после вакцинации БЦЖ моноциты приобретают характеристики «тренированных» клеток, что проявляется в виде повышения экспрессии ряда поверхностных маркеров (CD14, TLR4) и продукции провоспалительных цитокинов [4, 9, 15, 27]. В экспериментальных моделях на мышах БЦЖ оказывала протективный ответ по отношению к «посторонним» инфекциям [15, 27], хотя и не ко всем [9]. Повышение уровня продукции провоспалительных цитокинов после вакцинации БЦЖ показано также для НК-клеток [16]. Эти эффекты БЦЖ принято ассоциировать с эпигенетическим репрограммированием клеток врожденного иммунитета, в частности, с модификацией гистонов, ассоциированных с генами TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , TLR4, а также с метаболическими сдвигами в клетках, в частности, со смещением метаболизма от окислительного фосфорилирования к аэробному гликолизу [3, 6]. В клинических исследованиях вакцина БЦЖ снижала вирусную нагрузку при инфицировании аттенуированным штаммом вируса желтой лихорадки. Протективный эффект был связан с эпигенетическим репрограммированием клеток врожденного иммунитета и индукцией «тренированного» иммунитета; снижение виремии было ассоциировано с повышенной продукцией IL-1 $\beta$  [4].

Эпидемиологические исследования свидетельствуют в пользу способности БЦЖ увеличивать уровень протекции против «посторонних» патогенов, поскольку показывают, что БЦЖ-вакцинация новорожденных снижает детскую смертность [2, 8, 10]. Имеются сведения о снижении риска развития меланомы и лейкемии у детей, вакцинированных БЦЖ [20].

Таким образом, способность БЦЖ индуцировать гетерологичный и тренированный иммунитет показана во многих исследованиях. Ключевым вопросом, однако, является вопрос о длительности БЦЖ-индуцированной протекции и способности БЦЖ-вакцины, примененной в детстве, влиять на уровень протекции против вирусной инфекции через много лет.

БЦЖ представляет собой живую вакцину и потенциально способна к персистенции. Однако длительность персистенции БЦЖ и поддержания БЦЖ-индуцированного иммунитета точно не известны. С одной стороны, показано поддержание БЦЖ-индуцированного Т-клеточного ответа в течение 14 лет после вакцинации, а с другой — его существенное уменьшение в период от 3 месяцев до года и за-

against “unrelated” pathogens, since they show that administering the BCG vaccination to newborns reduces infant mortality [2, 8, 10]. There is evidence of a decrease in the risk of developing melanoma and leukemia in children vaccinated with BCG [20].

Thus, the ability of BCG to induce heterologous and trained immunity has been shown in many studies. The key question, however, is the question of the duration of BCG-induced protection and the ability of the BCG vaccine used in childhood to influence the level of protection against viral infection many years later.

BCG is a live vaccine and is potentially capable of persistence. However, it is not known exactly for how long BCG persistence may last and for how long a BCG-induced immunity may be maintained. On the one hand, it was shown that BCG-induced T-cell response was maintained for 14 years after vaccination, and on the other hand, there are also data demonstrating a significant decrease in this response in the period from 3 months to 1 year and then over 3 years from the moment of vaccination [25]. According to experts, the duration of BCG-induced protective immunity is unlikely to exceed 7–15 years (which explains, in particular, the timing of BCG revaccination in Russia (7 years) and in several other countries (6–15 years)). The duration of protection against “unrelated” pathogens is most likely shorter than of that against specific ones. At the same time, heterologous protection based on the formation of cross-reactive clones may last longer than the protection associated with the induction and maintenance of trained immunity [18]. Indeed, in studies carried out on volunteers, the heterologous response of Th1/Th17 lymphocytes was preserved for a year after the BCG vaccination, while the same authors recorded an increased production of pro-inflammatory cytokines by innate immune cells only for 3 months [14].

Thus, the question arises whether BCG vaccination of newborns can affect COVID-19 morbidity and mortality, which are recorded mainly in the adult population. In this regard, it is important to note that the BCG vaccination is carried out in countries with a higher burden of tuberculosis. These countries are characterized by the spread of latent tuberculosis infection (LTBI). It can therefore be assumed that the spread of LTBI (and not the BCG vaccination itself) ensures the maintenance of long-term heterologous/trained immunity in countries with a high burden of tuberculosis and thus underlies the “COVID-BCG” association. At the same time, it is significant that the lungs are the main localization site of both SARS-CoV-2 and *M. tuberculosis*. In contrast, BCG, which is administered subcutaneously, is not detected in the lungs [13].

In this regard, the important question is whether BCG revaccination can boost antiviral immunity in the current epidemiological situation.

тем — после 3 лет с момента вакцинации [25]. По мнению специалистов, длительность БЦЖ-индуцированного протективного иммунитета вряд ли превышает 7–15 лет [с чем, в частности, связаны сроки проведения ревакцинации БЦЖ в России (7 лет) и ряде других стран (6–15 лет)]. Сроки протекции по отношению к «посторонним» патогенам, скорее всего, ниже, чем к специфическим. При этом гетерологичная протекция, основанная на образовании кросс-реактивных клонов, может быть более длительной, чем протекция, связанная с индукцией и поддержанием «тренированного» иммунитета [18]. Действительно, в исследованиях на добровольцах было показано сохранение гетерологичного ответа лимфоцитов Th1/Th17 в течение года после вакцинации БЦЖ, тогда как увеличенную продукцию клетками врожденного иммунитета провоспалительных цитокинов те же авторы регистрировали только в течение 3 месяцев [14].

Таким образом, возникает вопрос, может ли БЦЖ-вакцинация новорожденных влиять на заболеваемость и смертность от COVID-19, регистрируемые, в основном, во взрослой популяции. В этой связи важно отметить, что БЦЖ-вакцинация проводится в странах с более высоким бременем туберкулеза. Для этих стран характерно распространение латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ). Поэтому можно предположить, что именно распространение ЛТИ (а не собственно вакцинация БЦЖ) обеспечивает поддержание длительного популяционного гетерологичного/тренированного иммунитета в странах с высоким бременем туберкулеза и лежит в основе ассоциации «COVID-BCG». Существенно при этом, что легкие являются основным местом локализации и SARS-CoV-2, и *M. tuberculosis*. БЦЖ, напротив, при подкожном введении в легких не определяется [13].

В связи с этим важным является вопрос о том, может ли ревакцинация БЦЖ усилить противовирусный иммунитет в текущей эпидемиологической ситуации.

## Использование БЦЖ для стимуляции протективного иммунитета в условиях распространения COVID-19

23 марта 2020 г. на Интернет-ресурсах появилось объявление о намерении четырех стран провести рандомизированные КИ эффективности вакцинации БЦЖ для защиты медицинского персонала от COVID-19 [11]. По состоянию на 7 апреля на сайте [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) были зарегистрированы два КИ, запланированные к проведению в Австралии (NCT04327206)

## The use of BCG to stimulate protective immunity during the spread of COVID-19

On March 23, 2020, an announcement appeared in Internet resources about the intention of four countries to conduct randomized clinical trials testing the effectiveness of the BCG vaccination in protecting medical personnel from COVID-19 [11]. As of April 7, two clinical trials, scheduled to be carried out in Australia (NCT04327206) and the Netherlands (NCT04328441), were registered on [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov). As of April 22, two more clinical trials were registered, aimed at studying the possibility of reducing the morbidity and severity of COVID-19 by BCG vaccination (NCT04350931, Egypt; NCT04348370, USA). The intention of the studies is to boost the antiviral immunity of the most vulnerable groups of the population, specifically, medical workers and the elderly, through BCG vaccination. According to the WHO, however, there is no evidence that BCG has the ability to enhance antiviral immunity [26]. The question arises about the feasibility and advisability of conducting clinical trials to revaccinate vulnerable groups in Russia. In our opinion, there are several grounds for conducting such trials.

First, such clinical trials will provide accurate data on the presence of heterologous protective activity of BCG in relation to the SARS-CoV-2 infection. Given that, according to experts, the spread of SARS-CoV-2 cannot be completely stopped quickly and that 40–70% of the world's population are expected to get COVID-19, while the infection may become seasonal, obtaining this information may become crucial for containing the spread of the SARS-CoV-2 infection (as well as other infections) in the future.

Second, if there is a protective effect, as expected, revaccination will immediately protect at least some of the people in the most vulnerable groups of the population. Given BCG's adjuvant effect and the relatively low prevalence of LTBI in Russia (according to our data, the level among people without contact with tuberculosis patients is less than 15% [23]), the chances that revaccination will increase heterologous/trained immunity in the population are quite high.

Third, in Russia, there is an established system for the production of the BCG vaccine, which makes it possible to organize such clinical trials fairly quickly.

It should be noted that BCG vaccination (revaccination) cannot be considered as a means of treating patients already infected with SARS-CoV-2, but only as a method of increasing protective antiviral population immunity in non-infected people. The latter point is important due to the high adjuvant activity of BCG and the risk of stimulating an undesirable inflammatory response in people with severe COVID-19 forms. It is also important to emphasize that quarantine measures currently remain the most effective and necessary mechanism for preventing the spread of the infection.

и Нидерландах (NCT04328441). По состоянию на 22 апреля зарегистрированы еще два КИ, направленных на изучение возможности снижения заболеваемости и тяжести течения COVID-19 путем вакцинации БЦЖ (NCT04350931, Египет; NCT04348370, США). Исследования направлены на повышение противовирусного иммунитета наиболее уязвимых групп населения — медицинских работников и пожилых людей — путем проведения БЦЖ-вакцинации. По мнению ВОЗ, однако, доказательных данных о наличии у БЦЖ способности повышать противовирусный иммунитет нет [26]. Встает вопрос о возможности и целесообразности проведения КИ по ревакцинации уязвимых групп населения в России. На наш взгляд, к проведению таких испытаний есть несколько предпосылок.

Первое. Проведение КИ позволит получить точные данные о наличии гетерологичной протективной активности БЦЖ по отношению к инфекции SARS-CoV-2. С учетом того, что, по мнению специалистов, полностью прекратить распространение SARS-CoV-2 быстро не удастся и ожидается, что 40-70% населения Земли переболеют COVID-19, а инфекция может стать «сезонной», получение этих сведений может оказаться существенным для сдерживания распространения инфекции SARS-CoV-2 (а также других инфекций) в будущем.

Второе. В случае наличия предполагаемого протективного эффекта ревакцинация позволит уже сейчас защитить хотя бы часть людей, входящих в наиболее уязвимые группы населения. С учетом наличия у БЦЖ адьювантного эффекта и относительно невысокого уровня распространения в России ЛТИ (по нашим данным, у людей без контакта с больными туберкулезом — менее 15% [23]), шансы, что ревакцинация повысит популяционный гетерологичный/тренированный иммунитет достаточно велики.

Третье. В России есть налаженная система производства вакцины БЦЖ, что позволяет в достаточно короткие сроки организовать подобные КИ.

Следует отметить, что вакцинация (ревакцинация) БЦЖ не может рассматриваться как средство терапии уже инфицированных SARS-CoV-2, а только как метод повышения протективного популяционного противовирусного иммунитета у неинфицированных людей. Последнее важно в связи с высокой адьювантной активностью БЦЖ и риском стимуляции нежелательного воспалительного ответа у людей с тяжелыми формами COVID-19. Важно также подчеркнуть, что на сегодняшний день карантинные меры остаются наиболее действенным и необходимым механизмом предупреждения распространения инфекции

## Conclusion

1. BCG has an adjuvant effect, the ability to stimulate a type 1 response and to induce heterologous and trained immunity, in particular, against viruses. BCG revaccination can potentially stimulate protective antiviral population immunity.

2. Existing data show a link between mandatory BCG vaccination and a relatively more favorable COVID-19 course in different countries. This relationship may be due to the direct effect of BCG, as well as to other factors, including those related to the induction of heterologous/trained immunity (for example, the incidence of LTBI) and those not related to it (such as cross-country differences in test coverage, the objectivity of the information provided, the rigor and speed of quarantine measures, etc.).

3. The answer to the question about the factors underlying the “COVID-BCG” association can be given by mathematical modeling of the epidemiological process, which must include various factors in addition to the BCG vaccination, as well as by the results of clinical trials on BCG vaccination/revaccination for vulnerable population groups. Conducting such clinical trials in Russia is advisable.

## Заключение

1. БЦЖ обладает адьювантным эффектом, способностью стимулировать Th ответ типа 1, индуцировать гетерологичный и тренированный иммунитет, в частности, по отношению к вирусам. Ревакцинация БЦЖ потенциально может стимулировать протективный популяционный противовирусный иммунитет.

2. Существующие данные показывают наличие связи между обязательной вакцинацией БЦЖ и относительно более благоприятным течением COVID-19 в разных странах. Эта связь может быть обусловлена непосредственным эффектом БЦЖ, а также другими факторами, как связанными с индукцией гетерологичного/тренированного иммунитета (например, уровнем распространения ЛТИ), так и не связанными с ним (межстрановые различия по уровню тестирования, объективность представляемой информации, жесткость и скорость принятия карантинных мер и др.).

3. Ответ на вопрос о факторах, лежащих в основе ассоциации «COVID-BCG», может дать математическое моделирование эпидемиологического процесса с включением в анализ различных факторов, помимо вакцинации БЦЖ, а также результаты КИ по вакцинации/ревакцинации уязвимых групп населения. Проведение соответствующих КИ в России представляется целесообразным.

## Список литературы/References

1. Илларионов А. Вакцинация БЦЖ и смертность от коронавируса на стадии эпидемиологического «взрыва». Персональная страница А. Илларионова. Livejournal. [Illarionov A. BCG and coronavirus mortality rates at the stage of epidemiological explosion. A. Illarionov personal page. Livejournal]. URL: <https://aillarionov.livejournal.com/1169468.html> (31.03.2020)
2. Aaby P., Benn C.S. Saving lives by training innate immunity with Bacille Calmette–Guérin vaccine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, no. 43, pp. 17317–17318. doi: 10.1073/pnas.1215761109
3. Arts R.J.W., Blok B.A., Aaby P., Joosten L.A.B., de Jong D., van der Meer J.W.M., Benn C.S., van Crevel R., Netea M.G. Long-term in vitro and in vivo effects of  $\gamma$ -irradiated BCG on innate and adaptive immunity. *J. Leukoc. Biol.*, 2015, vol. 98, no. 6, pp. 995–1001. doi: 10.1189/jlb.4MA0215-059R
4. Arts R.J.W., Moorlag S.J.C.F.M., Novakovic B., Li Y., Wang S.Y., Oosting M., Kumar V., Xavier R.J., Wijmenga C., Joosten L.A.B., Reusken C.B.E.M., Benn C.S., Aaby P., Koopmans M.P., Stunnenberg H.G., van Crevel R., Netea M.G. BCG vaccination protects against experimental viral infection in humans through the induction of cytokines associated with trained immunity. *Cell Host Microbe*, 2018, vol. 23, no. 1, pp. 89–100. doi: 10.1016/j.chom.2017.12.010
5. Bansal M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes Metab. Syndr.*, 2020, vol. 14, no. 3, pp. 247–250. doi: 10.1016/j.dsx.2020.03.013
6. Covián C., Fernández-Fierro A., Retamal-Díaz A., Díaz F.E., Vasquez A.E., Lay M.K., Riedel C.A., González P.A., Bueno S.M., Kalergis A.M. BCG-induced cross-protection and development of trained immunity: implication for vaccine design. *Front Immunol.*, 2019, vol. 10: 2806. doi: 10.3389/fimmu.2019.02806
7. COVID-19 Coronavirus Pandemic. Worldometer. URL: <https://www.worldometers.info/coronavirus> (21.04.2020)
8. De Bree L.C.J., Koeken V.A.C.M., Joosten L.A.B., Aaby P., Benn C.S., van Crevel R., Netea M.G. Non-specific effects of vaccines: current evidence and potential implications. *Semin. Immunol.*, 2018, vol. 39, pp. 35–43. doi: 10.1016/j.smim.2018.06.002
9. De Bree L.C.J., Marijnissen R.J., Kel J.M., Rosendahl Huber S.K., Aaby P., Benn C.S., Wijnands M.V.W., Diavatopoulos D.A., van Crevel R., Joosten L.A.B., Netea M.G., Dulos J. Bacillus Calmette–Guérin-induced trained immunity is not protective for experimental influenza A/Anhui/1/2013 (H7N9) infection in mice. *Front Immunol.*, 2018, vol. 9: 869. doi: 10.3389/fimmu.2018.00869
10. De Castro M.J., Pardo-Seco J., Martín-Torres F. Nonspecific (heterologous) protection of neonatal BCG vaccination against hospitalization due to respiratory infection and sepsis. *Clin. Infect. Dis.*, 2015, vol. 60, no. 11, pp. 1611–1619. doi: 10.1093/cid/civ144
11. De Vriez J. Can a century-old TB vaccine steel the immune system against the new coronavirus. *Science*, 2020, March 23. doi:10.1126/science.abb8297
12. Ford N.D., Patel S.A., Venkat Narayan K.M. Obesity in low- and middle-income countries: burden, drivers and emerging challenges. *Annu. Rev. Public Health.*, 2017, vol. 38, no. 1, pp. 145–164. doi: 10.1146/annurev-publhealth-031816-044604
13. Kapina M.A., Shepelkova G.S., Mischenko V.V., Sayles P., Bogacheva P., Winslow G., Apt A.S., Lyadova I.V. CD27<sup>low</sup> CD4<sup>+</sup> T lymphocytes that accumulate in the mouse lungs during mycobacterial infection differentiate from CD27<sup>high</sup> precursors in situ, produce IFN- $\gamma$ , and protect the host against tuberculosis infection. *J. Immunol.*, 2007, vol. 178, no. 2, pp. 976–985. doi: 10.4049/jimmunol.178.2.976
14. Kleinnijenhuis J., Quintin J., Preijers F., Benn C.S., Joosten L.A., Jacobs C., van Loenhout J., Xavier R.J., Aaby P., van der Meer J.W., van Crevel R., Netea M.G. Long-lasting effects of BCG vaccination on both heterologous Th1/Th17 responses and innate trained immunity. *J. Innate Immun.*, 2014, vol. 6, no. 2, pp. 152–158. doi: 10.1159/000355628
15. Kleinnijenhuis J., Quintin J., Preijers F., Joosten L.A., Ifrim D.C., Saeed S., Jacobs C., van Loenhout J., de Jong D., Stunnenberg H.G., Xavier R.J., van der Meer J.W., van Crevel R., Netea M.G. Bacille Calmette–Guérin induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, no. 43, pp. 17537–17542. doi: 10.1073/pnas.1202870109
16. Kleinnijenhuis J., Quintin J., Preijers F., Joosten L.A.B., Jacobs C., Xavier R.J., van der Meer J.W., van Crevel R., Netea M.G. BCG-induced trained immunity in NK cells: role for non-specific protection to infection. *Clin. Immunol.*, 2014, vol. 155, no. 2, pp. 213–219. doi: 10.1016/j.clim.2014.10.005
17. Lighter J., Phillips M., Hochman S., Sterling S., Johnson D., Francois F., Stachel A. Obesity in patients younger than 60 years is a risk factor for COVID-19 hospital admission. *Clin. Infect. Dis.*, 2020; ciaa415. doi:10.1093/cid/ciaa415
18. Mathurin K.S., Martens G.W., Kornfeld H., Welsh R.M. CD4 T-cell-mediated heterologous immunity between mycobacteria and poxviruses. *J. Virol.*, 2009, vol. 83, no. 8, pp. 3528–3539. doi: 10.1128/JVI.02393-08
19. Miller M.F., Reandelar M.J., Fasciglione K., Roumenova V., Li Y., Otazu G.H. Correlation between universal BCG vaccination policy and reduced morbidity and mortality for COVID-19: an epidemiological study. *medRxiv*, 2020.03.24.20042937. doi: 10.1101/2020.03.24.20042937
20. Morra M.E., Kien N.D., Elmaraezy A., Abdelaziz O.A.M., Elsayed A.L., Halhouli O., Montasr A.M., Vu T.L., Ho C., Foly A.S., Phi A.P., Abdullah W.M., Mikhail M., Milne E., Hirayama K., Huy N.T. Early vaccination protects against childhood leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, no. 1: 15986. doi: 10.1038/s41598-017-16067-0
21. Netea M.G., Quintin J., Van Der Meer J.W.M. Trained immunity: a memory for innate host defense. *Cell Host Microbe*, 2011, vol. 9, no. 5, pp. 355–361. doi: 10.1016/j.chom.2011.04.006
22. Ng C.J., Teo C.H., Abdullah N., Tan W.P., Tan H.M. Relationships between cancer pattern, country income and geographical region in Asia. *BMC Cancer*, 2015, vol. 15: 613. doi: 10.1186/s12885-015-1615-0
23. Nikitina I.Y., Panteleev A.V., Sosunova E.V., Karpina N.L., Bagdasarian T.R., Burmistrova I.A., Andreevskaya S.N., Chernousova L.N., Vasilyeva I.A., Lyadova I.V. Antigen-specific IFN $\gamma$  responses correlate with the activity of M. tuberculosis infection but are not associated with the severity of tuberculosis disease. *J. Immunol. Res.*, 2016: 7249369. doi: 10.1155/2016/7249369
24. The BCG world atlas. 2nd edition. A database of global BCG vaccination policies and practices. 2017. URL: <http://www.bcgatlas.org> (21.04.2020)

25. Weir R.E., Gorak-Stolinska P., Floyd S., Lalor M.K., Stenson S., Branson K., Blitz R., Ben-Smith A., Fine P.E.M., Dockrell H.M. Persistence of the immune response induced by BCG vaccination. *BMC Infect. Dis.*, 2008, vol. 8: 9. doi: 10.1186/1471-2334-8-9
26. WHO: Bacille Calmette–Guérin (BCG) vaccination and COVID-19. Scientific Brief. 12.04.2020. URL: [https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/bacille-calmette-gu%C3%A9rin-\(bcg\)-vaccination-and-covid-19](https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/bacille-calmette-gu%C3%A9rin-(bcg)-vaccination-and-covid-19)
27. Wout J.W., Poell R., Furth R. The Role of BCG/PPD-activated macrophages in resistance against systemic candidiasis in mice. *Scand. J. Immunol.*, 1992, vol. 36, no. 5, pp. 713–719. doi: 10.1111/j.1365-3083.1992.tb03132.x

---

**Авторы:**

**Лядова И.В.**, д.м.н., главный научный сотрудник, зав. лабораторией клеточных и молекулярных основ гистогенеза ФГБУН Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Россия; зав. кафедрой клеточной биомедицины факультета дополнительного профессионального образования Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия;  
**Стариков А.А.**, независимый исследователь, ФГБУН Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Россия.

**Authors:**

**Lyadova I.V.**, PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Cellular and Molecular Basis of Histogenesis, Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; Head of the Department of Cellular Biomedicine, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation;  
**Starikov A.A.**, Independent Researcher, Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation.

---

Поступила в редакцию 26.04.2020  
Принята к печати 06.05.2020

Received 26.04.2020  
Accepted 06.05.2020

# РОЛЬ ПЕПТИДОГЛИКАН-РАСПОЗНАЮЩИХ БЕЛКОВ В РЕГУЛЯЦИИ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

Д.А. Слонова<sup>1,2</sup>, А.В. Посвятенко<sup>1</sup>, А.В. Кибардин<sup>1</sup>, Г.П. Георгиев<sup>3</sup>, Н.В. Гнучев<sup>3</sup>, С.С. Ларин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева МЗ РФ, Москва, Россия

<sup>2</sup> АНО ВПО Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

**Резюме.** В настоящее время число патогенных микроорганизмов, устойчивых или толерантных к антибиотикам, растет. Для борьбы с ними нужно менять класс антибиотиков, или увеличивать их дозу, или разрабатывать новые антимикробные препараты. Одним из возможных решений данной проблемы является использование механизмов врожденного иммунитета. Врожденный иммунитет характерен для всех многоклеточных. За время совместной эволюции эукариоты выработали несколько способов защиты от микроорганизмов. Главные принципы врожденного иммунитета — распознавание чужеродного и его уничтожение. Распознавание чужеродных агентов происходит с помощью рецепторов, специализированных на узнавании консервативных структур патогенов. Элиминация происходит за счет фагоцитоза и расщепления, например с помощью оксидативного взрыва в фагоцитирующих клетках, системы комплимента или антимикробных пептидов. Основой системы распознавания врожденного иммунитета являются рецепторы опознавания паттернов. Паттернами, в данном случае, называют консервативные структуры, специфичные для больших групп патогенов, к ним относятся, например: липополисахарид, пептидогликан, флагеллин и другие. В связи с разнообразием патогенов существует множество консервативных структур, характерных для этих патогенов и множество рецепторов к ним. Семейство пептидогликан-распознающих белков относится к таким рецепторам. Впервые пептидогликан-распознающие белки были выделены в 1996 г. у тутового шелкопряда и у мыши. Позднее было выяснено, что это семейство консервативно, его представители есть и у насекомых, и у рыб, и у млекопитающих. В этой статье рассмотрены функции пептидогликан-распознающих белков насекомых на примере *Drosophila melanogaster* и млекопитающих. Эти белки экспрессируются в основном в клетках печени (у насекомых в клетках жировой ткани — аналог печени), клетках кишечника и эпидермисе. Многочисленные исследования демонстрируют, что пептидогликан-распознающие белки выполняют разнообразнейшие функции, не всегда сводящиеся к активации иммунитета и уничтожению чужеродных объектов. У насекомых белки данного семейства активируют сигнальные пути, в том числе приводящие к экспрессии антимикробных белков, предотвращают активацию энтероцитов, ограничивают воспаление. Пептидогликан-распознающие белки млекопитающих обладают бактерицидной и бактериостатической активностью, меняя проницаемость бактериальных мембран, запускают процессы самоуничтожения бактерий, связываясь с белками на поверхности бактериальной клеточной стенки. Белки семейства могут индуцировать воспали-

---

**Адрес для переписки:**

Ларин Сергей Сергеевич  
117997, Россия, Москва, ул. Саморы Машела, 1,  
ФГБУ НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии  
имени Дмитрия Рогачева МЗ РФ.  
Тел.: 8 (495) 287-65-70. Факс: 8 (495) 664-70-90.  
E-mail: sergei\_larin@mail.ru

**Contacts:**

Sergey S. Larin  
117997, Russian Federation, Moscow, Samory Mashela str., 1,  
Dmitry Rogachev National Medical Research Center  
of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology.  
Phone: +7 (495) 287-65-70. Fax: +7 (495) 664-70-90.  
E-mail: sergei\_larin@mail.ru

**Библиографическое описание:**

Слонова Д.А., Посвятенко А.В., Кибардин А.В., Георгиев Г.П., Гнучев Н.В., Ларин С.С. Роль пептидогликан-распознающих белков в регуляции врожденного иммунного ответа // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 469–476. doi: 10.15789/2220-7619-ARO-1244

**Citation:**

Slonova D.A., Posvyatenko A.V., Kibardin A.V., Georgiev G.P., Gnuchev N.V., Larin S.S. A role of peptidoglycan recognition proteins in regulating innate immune response // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 469–476. doi: 10.15789/2220-7619-ARO-1244

тельный ответ и подавлять его, регулируют микробиоту — являются модераторами иммунного ответа. С учетом эволюционной консервативности этих белков и отсутствия у бактерий механизма ускользания от них, перспективным представляется использования пептидогликан-распознающих белков в комплексном подходе к лечению антибиотикорезистентных и антибиотикотолерантных форм микроорганизмов.

**Ключевые слова:** врожденный иммунитет, пептидогликан-распознающие белки, PGRP, PGLYRP, паттерн-ассоциированные рецепторы, *Drosophila melanogaster*, иммунный ответ.

## A ROLE OF PEPTIDOGLYCAN RECOGNITION PROTEINS IN REGULATING INNATE IMMUNE RESPONSE

Slonova D.A.<sup>a,b</sup>, Posvyatenko A.V.<sup>a</sup>, Kibardin A.V.<sup>a</sup>, Georgiev G.P.<sup>c</sup>, Gnuchev N.V.<sup>c</sup>, Larin S.S.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> Institute of Gene Biology, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** By now, a whole number of pathogenic antibiotic-resistant or tolerant microorganisms has been progressively increased. Hence, efficient fight against them requires to change the class of antibiotics, increase their dose, or develop new antimicrobial drugs. On the contrary, another option could rely on augmenting innate immunity. During coevolution, eukaryotes have developed several ways for their protection against microorganisms. Innate immunity conserved in all multicellular organisms. The essential principles of innate immunity include recognition of a foreign structures and their subsequent destruction. A set of specific receptors recognize conserved pathogen-derived structures. Elimination occurs due to phagocytosis and cleavage, e.g. via oxidative burst in phagocytic cells, compliment system or antimicrobial peptides. Recognition system in innate immunity is based on the pattern recognition receptors. Due to the pathogen diversity, multiple conserved structures typical to pathogens (e.g. lipopolysaccharide, peptidoglycan, flagellin etc.) are sensed by numerous receptors. The family of peptidoglycan recognition proteins is among such receptors, which were first isolated in 1996 from the silkworm *Bombyx mori* and mice. Later, it was demonstrated that this family is conserved and its members are found in insects, fish and mammals. Here, functions of insect peptidoglycan recognition proteins in *Drosophila melanogaster* as well as mammals are discussed. Such proteins are expressed mainly in liver cells (insects — in adipose tissue cells as analogue of mammalian liver), intestinal cells, and epidermis. Numerous studies demonstrate that peptidoglycan-recognition proteins moderate immune response, and may act as antimicrobial proteins, or to regulate microbiota as well as prevent enterocyte activation and restrict inflammatory response. Due to evolutionary conservatism observed for such proteins and inability for bacteria to evade their protective effects, it seems promising to use peptidoglycan recognition proteins in a combination therapeutic approach against antibiotic-resistant and antibiotic-tolerant forms of microorganisms.

**Key words:** innate immunity, peptidoglycan recognition proteins, PGRP, PGLYRP, pattern-recognition receptors, *Drosophila melanogaster*, immune response.

В процессе эволюции у многоклеточных организмов появилась необходимость создания механизма распознавания «свой—чужой». Изобилие быстро делящихся микроорганизмов в окружающей среде способствовало развитию рецепторов распознавания патоген-ассоциированных паттернов, консервативных структур патогенов. Данные рецепторы лежат в основе функционирования системы врожденного иммунитета. Одним из важных компонентов системы врожденного иммунитета является система распознавания пептидогликанов с использованием пептидогликан-распознающих белков.

### Пептидогликан-распознающие белки

К эволюционно-консервативным рецепторам опознавания паттернов относят семейство пептидогликан-распознающих белков. Пептидогликан входит в состав клеточной стенки как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, являясь хорошей мише-

нью для распознавания компонентами системы врожденного иммунитета. Среди членов семейства пептидогликан-распознающих белков присутствуют секретируемые белки, которые, возможно, вовлечены в более сложные механизмы иммунного ответа, чем простое взаимодействие лиганд—рецептор.

### Изучение пептидогликан-распознающих белков семейства PGRP

Белки, распознающие пептидогликан, впервые были обнаружены в гемолимфе тутового шелкопряда в 1996 г. Эти белки связываются с пептидогликаном грамположительных бактерий и активируют профенолоксидазный каскад — противомикробный защитный механизм насекомых [57]. Одновременно было обнаружено наличие сходных белков в клетках млекопитающих [2]. В 1998 г. было показано, что PGRPs высококонсервативны от насекомых

до млекопитающих [24] и могут играть важную роль как в ответе на патоген, так и при формировании и развитии опухолей у мышей [28].

У насекомых описано несколько генов, кодирующих пептидогликан-распознающие белки, например, *Anopheles gambiae*, имеет 9 таких белков, *Drosophila melanogaster* — 20, *Bombyx mori* — 4. В зависимости от размера мРНК транскрипта, эти гены делятся на длинные (L), белки которых могут быть внутриклеточными, внеклеточными или трансмембранными, и короткие (S), белки которых чаще всего внеклеточные [18]. У млекопитающих всего четыре гена, которые кодируют следующие белки: короткий PGRP-S (19–25 kDa), длинный PGRP-L (до 90 kDa) и два промежуточных, PGRP-I $\alpha$  и PGRP-I $\beta$  (40–45 kDa) [44]. Согласно действующей номенклатуре, их называют PGLYRP-1, PGLYRP-2, PGLYRP-3 и PGLYRP-4 соответственно. Пептидогликан-распознающие белки беспозвоночных в настоящее время принято обозначать как PGRP, а позвоночных — PGLYRP [12].

Все пептидогликан-распознающие белки имеют, по крайней мере один домен PGRP, размером примерно 165 аминокислот. Этот домен структурно схож с лизоцимом бактериофага T7 [40]. Некоторые белки (например, белок дрозофилы PGRP-LF и млекопитающих PGLYRP-3 и PGLYRP-4) имеют два домена PGRP, которые гомологичны, но не идентичны. У длинных белков, как правило, один домен PGRP и одна дополнительная уникальная концевая последовательность аминокислот (рис.). Все пептидогликан-распознающие белки, обладающие амидазной активностью, имеют консервативный Zn<sup>2+</sup>-связывающий сайт, который также присутствует у бактериофага. Этот сайт состоит из двух гистидинов, одного тирозина и одного цистеина. У белков, не обладающих амидазной активностью, этот цистеин заменен на серин [15, 38, 52].

## Функции пептидогликан-распознающих белков PGRP

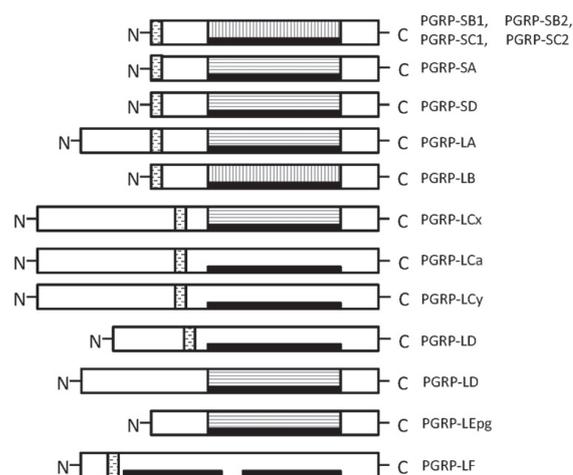
### Функции PGRP у насекомых

Пептидогликан-распознающие белки насекомых вовлечены в сигнальные пути врожденного иммунитета. Рассмотрим их действие на примере белков *Drosophila melanogaster*.

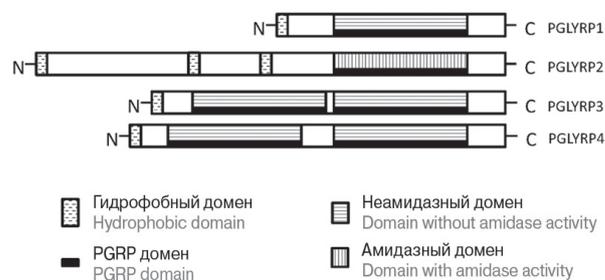
У дрозофил гены PGRP экспрессируются в гемоцитах, клетках жировой ткани (функциональный эквивалент печени млекопитающих), кишечнике и эпидермисе [55]. Экспрессия большинства коротких PGRP белков повышается в ответ на бактериальную инфекцию [55].

Белок PGRP-SA взаимодействует с PGRP-SD и GNBPI (Gram-Negative Bacteria-Binding Protein 1), для активации Toll-сигнального пути (Toll) [6, 16]. В жировой ткани после связывания

Пептидогликан-распознающие белки *Drosophila melanogaster*  
*Drosophila melanogaster* peptidoglycan recognition proteins



Пептидогликан-распознающие белки млекопитающих  
Mammalian peptidoglycan recognition proteins



**Рисунок. Схема доменной структуры пептидогликан-распознающих белков *Drosophila melanogaster* и млекопитающих**

Figure. Domain structure of *Drosophila melanogaster* and mammalian peptidoglycan recognition proteins

белка PGRP-SA с пептидогликаном грамположительных бактерий запускается каскад сериновых протеаз, вследствие чего активируется неактивный лиганд proSpätzle для рецептора Toll [14, 21, 30, 31, 53]. Активация Toll-рецептора инициирует NF- $\kappa$ B-зависимый сигнальный путь и продукцию антимикробных белков, эффективных против грамположительных бактерий и грибов [19].

Пептидогликан грамотрицательных бактерий распознают белки PGRP-LC и PGRP LE, которые активируют иммунодефицитный сигнальный путь (IMD-путь) в жировой ткани. Белок PGRP-LC представляет собой трансмембранный рецептор, связывающийся с пептидогликаном через внеклеточный домен PGRP и с адаптерным белком Imd через внутриклеточный домен [9, 17, 42]. В результате альтернативного сплайсинга получают три изоформы белка (x, y, a). Все они обладают идентичными внутриклеточными и разными внеклеточными доменами с разнообразными особенностями [55]. Сочетание изоформ a и x белка

PGRP-LC формирует рецептор мономерных фрагментов пептидогликана, гомодимеры PGRP-LC $\alpha$  распознают полимеры пептидогликана. Образование неактивного гетеродимера PGRP-LF:PGRP-LC $\alpha$  предотвращает формирование гетеродимера PGRP-LC $\alpha$ :PGRP-LC $\alpha$  и является регулятором сигнального пути IMD по принципу отрицательной обратной связи [5, 7, 22, 36, 54]. Пептидогликан грамотрицательных бактерий распознается также белком PGRP-LE, который существует в двух формах. Полноразмерная изоформа PGRP-LEfl является внутриклеточным рецептором пептидогликана и запускает процесс аутофагии [56], а укороченная форма PGRP-LEpg участвует в PGRP-LC $\alpha$ -опосредованном распознавании пептидогликана на поверхности клетки [23, 56].

Семь пептидогликан-распознающих белков *Drosophila melanogaster* обладают амидазной активностью: PGRP-LB-A, PGRP-LB-B, PGRP-LB-C, PGRP-SB1, PGRP-SB2, PGRP-SC1 и PGRP-SC2. Благодаря своей способности расщеплять пептидогликан, белки PGRP-SC и PGRP-LB поддерживают низкий базовый уровень пептидогликана в кишечнике, не допуская самопроизвольную активацию IMD-пути [8, 41]. Основной функцией секретируемых белков PGRP-LB является предотвращение попадания свободного пептидогликана из кишечника в гемолимфу. Если пептидогликан попадет в гемолимфу, он может вызвать системный иммунный ответ: аутофагию адипоцитов [8]. Таким образом, пептидогликан-распознающие белки контролируют количество пептидогликана в кишечнике и предотвращают активацию энтероцитов *Drosophila melanogaster*.

Некоторые внеклеточные пептидогликан-распознающие белки функционируют в качестве антибактериальных белков, например PGRP-SB, или опсоинов, например PGRP-SC [12, 39, 43]. Пептидогликан-распознающие белки некоторых насекомых гидролизуют или неферментативно нейтрализуют провоспалительные бактериальные пептидогликаны и таким образом ограничивают воспаление [43].

### Функции PGRP у млекопитающих

У млекопитающих всего четыре пептидогликан-распознающих белка: Tag-7 (PGLYRP-1, 19–25 kDa), длинный Tag-L (PGLYRP-2, до 90 kDa) и два промежуточных, PGLYRP-3 (PGRP-I $\alpha$ ) и PGLYRP-4 (PGRP-I $\beta$ , 40–45 kDa) [44]. Белки PGLYRP-1, PGLYRP-3 и PGLYRP-4 формируют гомодимеры, связанные дисульфидными мостиками. Белки PGLYRP-3 и PGLYRP-4 могут образовывать гетеродимеры.

Белок PGLYRP-1 экспрессируется на высоком уровне в костном мозге, полиморфноядерных лейкоцитах и в их предшественниках [1, 24, 28,

34], причем только в секреторных гранулах [48, 49]. Транскрипт присутствует в легких, селезенке, тканях головного мозга [28]. В меньшей степени этот белок секретируется в М-клетках кишечника, эпителиальных клетках и фибробластах.

Белок PGLYRP-2 постоянно экспрессируется в печени, откуда секретируется в кровь. N-ацетилмурамил-L-аланинамидаза и PGLYRP-2 представляют собой один и тот же белок, который кодируется геном *tagL* [52]. Этот белок секретируется в эпителиальных клетках ротовой полости и кишечника. В ответ на бактерии и цитокины наблюдается продукция этого белка также в кератиноцитах, фибробластах и других эпителиальных клетках. У некоторых млекопитающих экспрессируются множественные сплайс-формы белка PGLYRP-2, которые могут осуществлять различные функции [27].

Белок PGLYRP-2 является амидазой, которая гидролизует пептидогликан бактериальной клеточной стенки [15, 52]. Предпочтительными субстратами являются растворимые фрагменты пептидогликана, такие как продукты расщепления пептидогликана лизоцимом или бактериальными пептидогликангидролазами, в то время как интактный кросс-сшитый пептидогликан клеточной стенки является плохим субстратом для PGLYRP-2. Минимальный фрагмент пептидогликана, гидролизуемый PGLYRP-2, представляет собой мурамилтрипептид (аналогичный минимальному фрагменту, связывающему PGRP), тогда как мурамилдипептид не гидролизуется PGLYRP-2 [52]. Сывороточный белок PGLYRP-2 может обладать активностью, схожей с активностью пептидогликан-распознающих белков насекомых. В тканях PGLYRP-2 участвует в индукции воспалительного ответа, однако этот процесс не зависит от его амидазной активности и способности связываться с пептидогликаном [46].

Белки PGLYRP-3 и PGLYRP-4 избирательно экспрессируются в эпидермисе кожи, волосных фолликулах, сальных, потовых и слизистых железах, в цилиарном теле глаза и эпителии роговицы, на языке и в плоских эпителиальных клетках пищевода, в желудке, тонком и толстом кишечнике [35, 37]. Бактерии и продукты их жизнедеятельности активируют экспрессию PGLYRP-3 и PGLYRP-4 в кератиноцитах [35], фибробластах [46] и эпителиальных клетках слизистой ротовой полости [50], вероятно, посредством активации Toll-подобного рецептора (TLR) 2, TLR4, NOD1 и NOD2.

У белков PGLYRP-1, PGLYRP-3, PGLYRP-4 и гетеродимера PGLYRP-3:PGLYRP-4 человека описаны бактерицидные или бактериостатические свойства в отношении многих патогенных и непатогенных грамположительных и грамотрицательных бактерий [35, 48, 49, 51]. Так же

было показано снижение инвазивных свойств внутриклеточных патогенов в результате экспрессии PGLYRP-2 [26]. Белки PGLYRP-1, PGLYRP-3 и PGLYRP-4 других млекопитающих, вероятно, будут иметь сходную активность.

Данные белки можно выделить в новый класс белков, так как их структура, механизм действия и паттерн экспрессии отличаются от известных в настоящее время антимикробных белков млекопитающих [11, 35, 51]. Белки PGLYRP-1, PGLYRP-3, PGLYRP-3:4 и PGLYRP-4 человека представляют собой гликозилированные димеры массой 44, 89, 98 и 115 kDa соответственно [35], в то время как антимикробные пептиды позвоночных имеют массу 3–15 kDa. Белки PGLYRP-1, PGLYRP-3, PGLYRP-4 и гетеродимер PGLYRP-3:PGLYRP-4 человека действуют против многих патогенных и непатогенных грамположительных и грамотрицательных бактерий. Для бактерицидной активности они используют двухвалентные катионы и N-гликозилирование, которые обычно не требуются проникающим через мембрану антибактериальным пептидам, таким как дефенсины или магаинины. Также отличается механизм бактерицидной активности: пептидогликан-распознающие белки взаимодействуют с пептидогликаном клеточной стенки бактерии, а антимикробные пептиды меняют проницаемость бактериальных мембран [13].

Известно, что пептидогликан-распознающие белки вызывают гибель бактерии, используя бактериальные двухкомпонентные системы стрессового ответа, такие как CsrR-CsrS у *Bacillus subtilis* и CpxA-CpxR у *Escherichia coli* [25]. Эти двухкомпонентные системы состоят из трансмембранного сенсора и цитоплазматического регулятора. Они обнаруживают экстрацитоплазматические неправильно свернутые и агрегированные бактериальные белки, которые образуются при стрессе, выводятся из клетки и разрушаются с помощью протеаз [20, 29].

В случае грамположительных бактерий PGRP связываются с пептидогликаном в клеточных стенках бактерий в местах гидролиза ферментами LytE и LytF, которые у *B. subtilis* разделяют дочерние клетки после деления. В случае грамотрицательных бактерий PGRP связываются равномерно со всей наружной мембраной [25], которая состоит из липополисахарида (LPS) [33, 49] и покрывает тонкий слой пептидогликана. Связывание PGRP с пептидогликаном или LPS, вероятно, индуцирует олигомеризацию PGRP в лентоподобные структуры [32], которые затем детектируются двухкомпонентными системами CsrR-CsrS *B. subtilis* или CpxA-CpxR *E. coli* [25].

Активация двухкомпонентных систем не только приводит к удалению неправильно сложенных бактериальных белков, но также

запускает в клетке реакции восстановления и защиты и вызывает деполяризацию мембран и образование токсичных гидроксильных радикалов. Это сопровождается прекращением всех основных внутриклеточных биосинтетических реакций, вероятно, из-за отсутствия генерации энергии через механизмы, зависящие от мембранного потенциала [25, 29]. Если стресс сохраняется или его уровень слишком высок, бактерии умирают. PGRP млекопитающих (и, возможно, другие PGRP) запускают этот механизм защиты/суицида для уничтожения бактерий [25].

Помимо бактерицидных свойств пептидогликан-распознающие белки млекопитающих могут проявлять иммуномодулирующие свойства. Например, белок PGLYRP-3 усиливает фагоцитоз и провоспалительный ответ на пептидогликан в клетках THP-1 [10]. Нокдаун этого белка в линии клеток эпителиальной аденокарциномы толстой кишки CaCo<sub>2</sub> усиливал экспрессию воспалительных цитокинов в ответ на пептидогликан, тогда как избыточная экспрессия белка PGLYRP-3 снижала экспрессию цитокинов [58]. Белок PGLYRP-3 защищает клетки толстой кишки мышей дикого типа от декстран сульфат натрий-зависимого (DSS) воспаления и стабилизирует барьерные функции эпителия кишечника, за счет поддержания нормальной микробиоты и ингибирования индукции IFN $\gamma$  в ответ на повреждение [45]. Несмотря на то что мышинный белок PGLYRP-3 был обнаружен в легких и были обнаружены признаки его влияния на легочные инфекции [35, 37], существенного изменения продукции этого белка при пневмонии, индуцированной *Streptococcus pneumoniae*, у мышей не наблюдалось [47]. Таким образом, возможно, белок PGLYRP-3 выполняет как про-, так и противовоспалительные функции, модулируя иммунный ответ в контексте локального микроокружения каждой конкретной встречи с патогеном.

## Заключение

В заключение можно отметить, что белки семейства PGRP являются важными участниками иммунного ответа не только у насекомых, но и у млекопитающих, в частности, у человека. Специфически взаимодействуя с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами, белки семейства PGRP представляют собой систему распознавания и маркирования чужеродных агентов, участвуют в процессах биодеградации пептидогликана и запускают развитие защитных реакций врожденного иммунитета в ответ на присутствие пептидогликана. Таким образом, описанные белки являются важными

участниками системы распознавания «свой–чужой» на ранних этапах взаимодействия патогена и макроорганизма.

Влияние пептидогликан-распознающих белков млекопитающих на внутриклеточные патогены представляет особый интерес в условиях растущего числа патогенов, устойчивых к анти-

биотикам [4]. С учетом эволюционной консервативности данной системы и отсутствия у бактерий механизма ускользания от нее, перспективным представляется использование данного механизма в комплексном подходе к лечению антибиотикорезистентных и антибиотикотолерантных форм [3].

## Список литературы/References

1. Кибардин А.В., Миркина И.И., Закеева И.Р., Баранова Е.В., Георгиев Г.П., Киселев С.Л. Анализ экспрессии белков, кодируемых семейством генов tag7/tagB(PGRP-S,L), в клетках периферической крови человека // Генетика. 2003. Т. 39, № 2. С. 244–249. [Kibardin A.V., Mirkina I.I., Zakeyeva I.R., Baranova E.V., Georgiev G.P., Kiselev S.L. Expression analysis of proteins encoded by genes of the tag7/tagL (PGRP-S, L) family in human peripheral blood cells. *Genetika = Russian Journal of Genetics*, 2003, vol. 39, no. 2, pp. 244–249. (In Russ.)]
2. Кустикова О.С., Киселев С.Л., Бородулина О.Р., Сенин В.М., Афанасьева А.В., Кабишев А.А. Клонирование гена tag7, экспрессирующегося в метастазирующих опухолях мыши // Генетика. 1996. Т. 32, № 5. С. 621–628 [Kustikova O.S., Kiselev S.L., Borodulina O.R., Senin V.M., Afanas'eva A.V., Kabishev A.A. Cloning of the tag7 gene expressed in metastatic mouse tumors. *Genetika = Russian Journal of Genetics*, 1996, vol. 32, no. 5, pp. 621–628. (In Russ.)]
3. Слонова Д.А., Посвятенко А.В., Сысолятина Е.В., Еромолаева С.А., Кибардин А.В., Лысюк Е.Ю., Гапонов А.М., Гнучев Н.В., Георгиев Г.П., Ларин С.С. Влияние пептидогликан-распознающего белка Tag-7/PGLYRP-1 на внутриклеточное выживание *Listeria monocytogenes* // Медицинская иммунология. 2017. Т. 19, Спец. вып. С. 83. [Slonova D.A., Posvyatenko A.V., Sysolyatina E.V., Ermolaeva S.A., Kibardin A.V., Lyssuck E.Y., Gaponov A.M., Gnuchev N.V., Georgiev G.P., Larin S.S. The influence of the peptidoglycan recognition protein Tag-7/PGLYRP-1 on the intracellular survival of *Listeria monocytogenes*. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, vol. 19, special iss., p. 83. (In Russ.)]
4. Тутельян А.В., Гапонов А.М., Писарев В.М., Эльрегистан Г.И. Дормантное состояние микроорганизмов и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи // Терапевтический архив. 2015. Т. 87, № 11. С. 103–108. [Tutelyan A.V., Gaponov A.M., Pisarev V.M., Elregistan G.I. Microbial dormancy and prevention of healthcare-associated infections *Terapevticheskiy arkhiv = Terapevticheskiy Arkhiv*, 2015, vol. 87, no. 11, pp. 103–108. (In Russ.)]
5. Basbous N., Coste F., Leone P., Vincentelli R., Royet J., Kellenberger C., Roussel A. The *Drosophila* peptidoglycan-recognition protein LF interacts with peptidoglycan-recognition protein LC to downregulate the Imd pathway. *EMBO Rep.*, 2011, vol. 12, no. 4, pp. 327–333.
6. Bischoff V., Vignal C., Boneca I.G., Michel T., Hoffmann J.A., Royet J. Function of the *drosophila* pattern-recognition receptor PGRP-SD in the detection of Gram-positive bacteria. *Nat. Immunol.*, 2004, vol. 5, no. 11, pp. 1175–1180.
7. Chang C.I., Chelliah Y., Borek D., Mengin-Lecreulx D., Deisenhofer J. Structure of tracheal cytotoxin in complex with a heterodimeric pattern-recognition receptor. *Science*, 2006, vol. 311, no. 5768, pp. 1761–1764.
8. Charroux B., Capo F., Kurz C.L., Peslier S., Chaduli D., Viallat-Lieutaud A., Royet J. Cytosolic and secreted peptidoglycan-degrading enzymes in *drosophila* respectively control local and systemic immune responses to microbiota. *Cell Host Microbe.*, 2018, vol. 23, no. 2, pp. 215–228.
9. Choe K.M., Werner T., Stöven S., Hultmark D., Anderson K.V. Requirement for a peptidoglycan recognition protein (PGRP) in Relish activation and antibacterial immune responses in *Drosophila*. *Science.*, 2002, vol. 296, no. 5566, pp. 359–362.
10. De Marzi M.C., Todone M., Ganem M.B., Wang Q., Mariuzza R.A., Fernández M.M., Malchiodi E.L. Peptidoglycan recognition protein-peptidoglycan complexes increase monocyte/macrophage activation and enhance the inflammatory response. *Immunology*, 2015, vol. 145, no. 3, pp. 429–442. doi: 10.1111/imm.12460
11. Dziarski R., Gupta D. Mammalian PGRPs: novel antibacterial proteins. *Cell Microbiol.*, 2006, vol. 8, no. 7, pp. 1059–1069. doi: 10.1111/j.1462-5822.2006.00726.x
12. Dziarski R., Gupta D. The peptidoglycan recognition proteins (PGRPs). *Genome Biol.*, 2006, vol. 7, no. 8, p. 232.
13. Dziarski R., Kashyap D.R., Gupta D. Mammalian peptidoglycan recognition proteins kill bacteria by activating two-component systems and modulate microbiome and inflammation. *Microb. Drug Resist.*, 2012, vol. 18, no. 3, pp. 280–285.
14. Ferrandon D., Imler J.L., Hetru C., Hoffmann J.A. The *Drosophila* systemic immune response: sensing and signalling during bacterial and fungal infections. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007, vol. 7, no. 11, pp. 862–874.
15. Gelius E., Persson C., Karlsson J., Steiner H. A mammalian peptidoglycan recognition protein with N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, vol. 306, no. 4, pp. 988–994.
16. Gobert V., Gottar M., Matskevich A.A., Rutschmann S., Royet J., Belvin M., Hoffmann J.A., Ferrandon D. Dual activation of the *Drosophila* toll pathway by two pattern recognition receptors. *Science*, 2003, vol. 302, no. 5653, pp. 2126–2130.
17. Gottar M., Gobert V., Michel T., Belvin M., Duyk G., Hoffmann J.A., Ferrandon D., Royet J. The *Drosophila* immune response against Gram-negative bacteria is mediated by a peptidoglycan recognition protein. *Nature*, 2002, vol. 416, no. 6881, pp. 640–644.
18. Guan R., Mariuzza R.A. Peptidoglycan recognition proteins of the innate immune system. *Trends Microbiol.*, 2007, vol. 15, no. 3, pp. 127–134.
19. Hoffmann J.A. The immune response of *Drosophila*. *Nature*, 2003, vol. 426, no. 6962, pp. 33–38.
20. Huuyläinen H.L., Bolhuis A., Darmon E., Muukkonen L., Koski P., Vitikainen M., Sarvas M., Prágai Z., Bron S., van Dijk J.M., Kontinen V.P. A novel two-component regulatory system in *Bacillus subtilis* for the survival of severe secretion stress. *Mol. Microbiol.*, 2001, vol. 41, no. 5, pp. 1159–1172. doi: 10.1046/j.1365-2958.2001.02576.x

21. Jang I.H., Chosa N., Kim S.H., Nam H.J., Lemaitre B., Ochiai M., Kambris Z., Brun S., Hashimoto C., Ashida M., Brey P.T., Lee W.J. A Spätzle-processing enzyme required for toll signaling activation in *Drosophila* innate immunity. *Dev. Cell*, 2006, vol. 10, no. 1, pp. 45–55.
22. Kaneko T., Goldman W.E., Mellroth P., Steiner H., Fukase K., Kusumoto S., Harley W., Fox A., Golenbock D., Silverman N. Monomeric and polymeric gram-negative peptidoglycan but not purified LPS stimulate the *Drosophila* IMD pathway. *Immunity*, 2004, vol. 20, no. 5, pp. 637–649.
23. Kaneko T., Yano T., Aggarwal K., Lim J.H., Ueda K., Oshima Y., Peach C., Erturk-Hasdemir D., Goldman W.E., Oh B.H., Kurata S., Silverman N. PGRP-LC and PGRP-LE have essential yet distinct functions in the *drosophila* immune response to monomeric DAP-type peptidoglycan. *Nat. Immunol.*, 2006, vol. 7, no. 7, pp. 715–723.
24. Kang D., Liu G., Lundström A., Gelius E., Steiner H. A peptidoglycan recognition protein in innate immunity conserved from insects to humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, vol. 95, no. 17, pp. 10078–10082.
25. Kashyap D.R., Wang M., Liu L.H., Boons G.J., Gupta D., Dziarski R. Peptidoglycan recognition proteins kill bacteria by activating protein-sensing two-component systems. *Nat. Med.*, 2011, vol. 17, no. 6, pp. 676–683.
26. Kibardin A., Karpova T., Sapenko T., Vazquez-Boland J.A., Kiselev S., Ermolaeva S. Mammalian peptidoglycan recognition protein Tag-L inhibits *Listeria monocytogenes* invasion into epithelial cells. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2006, vol. 46, no. 2, pp. 284–290. doi: 10.1111/j.1574-695X.2005.00038.x
27. Kibardin A.V., Mirkina I.I., Baranova E.V., Zakeyeva I.R., Georgiev G.P., Kiselev S.L. The differentially spliced mouse tagL gene, homolog of tag7/PGRP gene family in mammals and *Drosophila*, can recognize Gram-positive and Gram-negative bacterial cell wall independently of T phage lysozyme homology domain. *J. Mol. Biol.*, 2003, vol. 326, no. 2, pp. 467–474.
28. Kiselev S.L., Kustikova O.S., Korobko E.V., Prokhortchouk E.B., Kabishev A.A., Lukanidin E.M., Georgiev G.P. Molecular cloning and characterization of the mouse tag7 gene encoding a novel cytokine. *J. Biol. Chem.*, 1998, vol. 273, no. 29, pp. 18633–18639.
29. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Wierzbowski J., Cottarel G., Collins J.J. Mistranslation of membrane proteins and two-component system activation trigger antibiotic-mediated cell death. *Cell*, 2008, vol. 135, no. 4, pp. 679–690.
30. Lemaitre B., Hoffmann J. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annu. Rev. Immunol.*, 2007, vol. 25, pp. 697–743. doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141615
31. Ligoxygakis P., Pelte N., Hoffmann J.A., Reichhart J.M. Activation of *Drosophila* Toll during fungal infection by a blood serine protease. *Science*, 2002, vol. 297, no. 5578, pp. 114–116.
32. Lim J.H., Kim M.S., Kim H.E., Yano T., Oshima Y., Aggarwal K., Goldman W.E., Silverman N., Kurata S., Oh B.H. Structural basis for preferential recognition of diaminopimelic acid-type peptidoglycan by a subset of peptidoglycan recognition proteins. *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281, no. 12, pp. 8286–8295.
33. Liu C., Gelius E., Liu G., Steiner H., Dziarski R. Mammalian peptidoglycan recognition protein binds peptidoglycan with high affinity, is expressed in neutrophils, and inhibits bacterial growth. *J. Biol. Chem.*, 2000, vol. 275, no. 32, pp. 24490–24499.
34. Liu C., Xu Z., Gupta D., Dziarski R. Peptidoglycan recognition proteins: a novel family of four human innate immunity pattern recognition molecules. *J. Biol. Chem.*, 2001, vol. 276, no. 37, pp. 34686–34694.
35. Lu X., Wang M., Qi J., Wang H., Li X., Gupta D., Dziarski R. Peptidoglycan recognition proteins are a new class of human bactericidal proteins. *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281, no. 9, pp. 5895–5907.
36. Mailliet F., Bischoff V., Vignal C., Hoffmann J., Royet J. The *Drosophila* peptidoglycan recognition protein PGRP-LF blocks PGRP-LC and IMD/JNK pathway activation. *Cell Host Microbe*, 2008, vol. 3, no. 5, pp. 293–303.
37. Mathur P., Murray B., Crowell T., Gardner H., Allaire N., Hsu Y.M., Thill G., Carulli J.P. Murine peptidoglycan recognition proteins PGLYRP1alpha and PGLYRP1beta are encoded in the epidermal differentiation complex and are expressed in epidermal and hematopoietic tissues. *Genomics*, 2004, vol. 83, no. 6, pp. 1151–1163.
38. Mellroth P., Karlsson J., Steiner H. A scavenger function for a *Drosophila* peptidoglycan recognition protein. *J. Biol. Chem.*, 2003, vol. 278, no. 9, pp. 7059–7064.
39. Mellroth P., Steiner H. PGRP-SB1: an N-acetylmuramoyl L-alanine amidase with antibacterial activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006, vol. 350, no. 4, pp. 994–999.
40. Mirkina I.I., Kibardin A.V., Korneeva E.A., Gnuchev N.V., Georgiev G.P., Kiselev S.L. Cloning and study of new mammalian genes containing the region of structural homology with phage lysozyme. *Rus. J. Genetics*, 2000, vol. 36, no. 11, pp. 1492–1500.
41. Neyen C., Runchel C., Schüpfer F., Meier P., Lemaitre B. The regulatory isoform rPGRP-LC induces immune resolution via endosomal degradation of receptors. *Nat. Immunol.*, 2016, vol. 17, no. 10, pp. 1150–1158
42. Rämets M., Manfruell P., Pearson A., Mathey-Prevot B., Ezekowitz R.A. Functional genomic analysis of phagocytosis and identification of a *Drosophila* receptor for *E. coli*. *Nature*, 2002, vol. 416, no. 6881, pp. 644–648.
43. Royet J., Dziarski R. Peptidoglycan recognition proteins: pleiotropic sensors and effectors of antimicrobial defences. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2007, vol. 5, no. 4, pp. 264–277.
44. Royet J., Gupta D., Dziarski R. Peptidoglycan recognition proteins: modulators of the microbiome and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011, vol. 11, no. 12, pp. 837–851.
45. Saha S., Jing X., Park S.Y., Wang S., Li X., Gupta D., Dziarski R. Peptidoglycan recognition proteins protect mice from experimental colitis by promoting normal gut flora and preventing induction of interferon-gamma. *Cell Host Microbe*, 2010, vol. 8, no. 2, pp. 147–162.
46. Saha S., Qi J., Wang S., Wang M., Li X., Kim Y.G., Núñez G., Gupta D., Dziarski R. PGLYRP-2 and Nod2 are both required for peptidoglycan-induced arthritis and local inflammation. *Cell Host Microbe*, 2009, vol. 5, no. 2, pp. 137–150.
47. Shrivastav A., Dabrowski A.N., Conrad C., Baal N., Hackstein H., Plog S., Dietert K., Gruber A.D., N'Guessan P.D., Aly S., Suttorp N., Zuhlten J. Peptidoglycan recognition protein 3 does not alter the outcome of pneumococcal pneumonia in mice. *Front Microbiol.*, 2018, vol. 9, no. 103.
48. Tydell C.C., Yount N., Tran D., Yuan J., Selsted M.E. Isolation, characterization, and antimicrobial properties of bovine oligosaccharide-binding protein. A microbicidal granule protein of eosinophils and neutrophils. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, no. 22, pp. 19658–19664.

49. Tydell C.C., Yuan J., Tran P., Selsted M.E. Bovine peptidoglycan recognition protein-S: antimicrobial activity, localization, secretion, and binding properties. *J. Immunol.*, 2006, vol. 176, no. 2, pp. 1154–1162.
50. Uehara A., Sugawara Y., Kurata S., Fujimoto Y., Fukase K., Kusumoto S., Satta Y., Sasano T., Sugawara S., Takada H. Chemically synthesized pathogen-associated molecular patterns increase the expression of peptidoglycan recognition proteins via toll-like receptors, NOD1 and NOD2 in human oral epithelial cells. *Cell Microbiol.*, 2005, vol. 7, no. 5, pp. 675–686. doi: 10.1111/j.1462-5822.2004.00500.x
51. Wang M., Liu L.H., Wang S., Li X., Lu X., Gupta D., Dziarski R. Human peptidoglycan recognition proteins require zinc to kill both gram-positive and gram-negative bacteria and are synergistic with antibacterial peptides. *J. Immunol.*, 2007, vol. 178, no. 5, pp. 3116–3125.
52. Wang Z.M., Li X., Cocklin R.R., Wang M., Wang M., Fukase K., Inamura S., Kusumoto S., Gupta D., Dziarski R. Human peptidoglycan recognition protein-L is an N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase. *J. Biol. Chem.*, 2003, vol. 278, no. 49, pp. 49044–49052.
53. Weber A.N., Tauszig-Delamasure S., Hoffmann J.A., Lelièvre E., Gascan H., Ray K.P., Morse M.A., Imler J.L., Gay N.J. Binding of the Drosophila cytokine Spätzle to Toll is direct and establishes signaling. *Nat. Immunol.*, 2003, vol. 4, no. 8, pp. 794–800.
54. Werner T., Borge-Renberg K., Mellroth P., Steiner H., Hultmark D. Functional diversity of the Drosophila PGRP-LC gene cluster in the response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. *J. Biol. Chem.*, 2003, vol. 278, no. 29, pp. 26319–26322.
55. Werner T., Liu G., Kang D., Ekengren S., Steiner H., Hultmark D. A family of peptidoglycan recognition proteins in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, vol. 97, no. 25, pp. 13772–13777.
56. Yano T., Mita S., Ohmori H., Oshima Y., Fujimoto Y., Ueda R., Takada H., Goldman W.E., Fukase K., Silverman N., Yoshimori T., Kurata S. Autophagic control of listeria through intracellular innate immune recognition in drosophila. *Nat. Immunol.*, 2008, vol. 9, no. 8, pp. 908–916.
57. Yoshida H., Kinoshita K., Ashida M. Purification of a peptidoglycan recognition protein from hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Biol. Chem.*, 1996, vol. 271, no. 23, pp. 13854–13860.
58. Zenhom M., Hyder A., Kraus-Stojanovic I., Auinger A., Roeder T., Schrezenmeier J. PPAR $\gamma$ -dependent peptidoglycan recognition protein 3 (PGlyRP3) expression regulates proinflammatory cytokines by microbial and dietary fatty acids. *Immunobiology*, 2011, vol. 216, no. 6, pp. 715–724.

**Авторы:**

**Слонова Д.А.** лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ, Москва, Россия; аспирантка, АНО ВПО Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия;

**Посвятенко А.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ, Москва, Россия;

**Кибардин А.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ, Москва, Россия;

**Георгиев Г.П.**, д.б.н., советник РАН, академик, профессор, главный научный сотрудник лаборатории генной терапии ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия;

**Гнучев Н.В.**, д.б.н., советник РАН, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммуногенетики рака ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, Россия;

**Ларин С.С.**, к.б.н., зам. директора по научной работе Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ, Москва, Россия.

**Authors:**

**Slonova D.A.**, Investigator, Laboratory of Molecular Immunology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation; PhD Student, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russian Federation;

**Posvyatenko A.V.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Dmitry Rogachev Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

**Kibardin A.V.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Dmitry Rogachev Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

**Georgiev G.P.**, PhD, MD (Biology), Adviser of RAS, Professor, RAS Full Member, Head Researcher, Laboratory of Gene Therapy, Institute of Gene Biology, Moscow, Russian Federation;

**Gnuchev N.V.**, PhD, MD (Biology), Adviser of RAS, Professor, RAS Corresponding Member, Head Researcher, Laboratory of Immunogenetics of Cancer, Institute of Gene Biology, Moscow, Russian Federation;

**Larin S.S.**, PhD (Biology), Deputy Director for Science, Molecular and Experimental Medicine, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 04.07.2019  
Отправлена на доработку 06.11.2019  
Принята к печати 11.11.2019

Received 04.07.2019  
Revision received 06.11.2019  
Accepted 11.11.2019

# RICKETTSIALPOX — A RARE BUT NOT EXTINCT DISEASE: REVIEW OF THE LITERATURE AND NEW DIRECTIONS

M.E. Ereemeeva, K. Muniz-Rodriguez

*Giann-Ping Hsu College of Public Health, Georgia Southern University, Statesboro, GA, USA*

**Abstract.** Rickettsialpox is an urban zoonosis caused by *Rickettsia akari*. To date *R. akari* is the only well-characterized mite-borne member of the spotted fever group. It is transmitted by the mouse mite, *Liponyssoides sanguineus*, commonly found on peridomestic rodents. While the disease was first discovered in New York City in 1946, a few years later a similar outbreak occurred in the Ukraine SSR. Numerous serosurveys and diagnosis of sporadic cases of rickettsialpox suggest its global distribution; however, the actual contemporary geography of rickettsialpox and its incidence are unknown. Rickettsialpox is characterized by the classic clinical triad found in rickettsioses of a black eschar, high fever, and rash but the latter is atypical as it is papulovesicular. Dermatological manifestations and the progression of rickettsialpox may mimic other infectious and noninfectious syndromes, including sexually transmitted diseases. The purpose of this review is to increase awareness of this unique disease through reanalysis of classic and contemporary clinical descriptions of rickettsialpox, evaluation of its worldwide distribution, and updates on the public health importance of the disease as well as the ecology and vector associations of *R. akari*. Our review data suggests that only limited genetic diversity exists among the available isolates of *R. akari* associated with previous outbreaks; additional effort is still required to define specific genetic markers permitting direct surveillance, accurate and reliable diagnosis, tracking and studying of the vector and host associations of contemporary isolates. The potential of *R. akari* to cross into other vector species emphasizes the necessity for detection of outbreaks of the disease in new regions of the world and in novel ecological settings. We describe existing gaps and limitations in our current understanding of the pathogenesis of rickettsialpox, the epidemiology of this disease and the genetic diversity of *R. akari*. We propose research priorities for what is needed to improve our understanding of this neglected rickettsial disease and its etiologic agent.

**Key words:** rickettsialpox, mite, *Liponyssoides sanguineus*, *Rickettsia akari*, rickettsiae, ecology, epidemiology.

## ОСПОВИДНЫЙ РИККЕТСИОЗ — РЕДКОЕ, НО НЕ ИСЧЕЗНУВШЕЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ

Еремеева М.Е., Муни-Родригес К.

*Колледж народного здравоохранения им. Цзян-Пин Хсу, Университет Южной Джорджии, Стейтсборо, Джорджия, США*

**Резюме.** Осповидный риккетсиоз является городским зоонозом, вызываемым *Rickettsia akari*. На сегодня *R. akari* является единственным охарактеризованным представителем группы пятнистых лихорадок, передающихся гамазовым клещом *Liponyssoides sanguineus*, распространенным среди перидомических грызунов. Впервые это заболевание было описано в Нью-Йорке в 1946 г., а спустя несколько лет подобная вспышка произошла в Украинской ССР. Многочисленные серологические исследования и диагностика спорадических случаев осповид-

---

**Адрес для переписки:**

Еремеева Марина Евгеньевна  
30458, США, Джорджия, Стейтсборо, почтовый ящик 8015,  
Университет Южной Джорджии.  
Тел.: +1 912 478-05-04. Факс: +1 912 478-58-11.  
E-mail: meremeeva@georgiasouthern.edu

**Contacts:**

Marina E. Ereemeeva  
Georgia Southern University PO Box 8015, Statesboro,  
GA 30458, USA.  
Phone: +1 912 478-05-04. Fax: +1 912 478-58-11.  
E-mail: meremeeva@georgiasouthern.edu

**Библиографическое описание:**

Еремеева М.Е., Муни-Родригес К. Осповидный риккетсиоз — редкое, но не исчезнувшее заболевание: обзор литературы и новые направления // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 477–485. doi: 10.15789/2220-7619-RAR-1294

**Citation:**

Ereemeeva M.E., Muniz-Rodriguez K. Rickettsialpox — a rare but not extinct disease: review of the literature and new directions // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 477–485. doi: 10.15789/2220-7619-RAR-1294

ного риккетсиоза предполагают его повсеместное распространение на планете; однако современная география распространения осповидного риккетсиоза и уровень заболеваемости неизвестны. Осповидный риккетсиоз характеризуется классической клинической триадой в виде первичного аффекта, высокой температуры и атипичной папуловезикулезной сыпи. Дерматологические проявления и прогрессирование осповидного риккетсиоза могут напоминать другие инфекционные и неинфекционные синдромы, в том числе венерические заболевания. Настоящий обзор был нацелен на привлечение повышенного внимания в отношении этой уникальной болезни путем анализа классических и современных клинических описаний осповидного риккетсиоза, оценки его глобальной распространенности и новых взглядов на его значимость для здравоохранения, а также экологии и взаимосвязи *R. akari* с переносчиком. Анализ данных указывает, что среди имеющихся изолятов *R. akari*, выделенных в процессе предыдущих вспышек, существует лишь ограниченное генетическое разнообразие. Потребуется приложить дополнительные усилия для определения специфических генетических маркеров, позволяющих проведение эпидемиологического надзора, а также точной и надежной диагностики, отслеживания и изучения современных изолятов, переносчиков и взаимодействия с организмом хозяина. Потенциал *R. akari* передаваться другими переносчиками подчеркивает необходимость идентификации вспышек заболевания в неизученных регионах и в новых экологических условиях. Мы описываем существующие проблемы в современном понимании патогенеза осповидного риккетсиоза, его эпидемиологии и генетического разнообразия *R. akari*. Мы предлагаем перечень научных исследований, необходимых для улучшения понимания этого забытого риккетсиоза и его этиологического агента.

**Ключевые слова:** осповидный риккетсиоз, гамазовые клещи, *Liponyssoides sanguineus*, *Rickettsia akari*, риккетсии, экология, эпидемиология.

## Introduction

At the time of its discovery, the human disease caused by *Rickettsia akari* was named rickettsialpox due to its clinical similarity to chickenpox and the close morphological characteristics of its etiological agent to other species of *Rickettsia* [34, 38, 39]. The first case of the disease was reported in June 1946 in New York City, USA where 144 individuals were diagnosed with infections manifesting with a black eschar, a high fever, and a papulovesicular rash [34]. In 1949 a large outbreak of a similar illness called vesicular rickettsiosis was reported from Ukraine [2, 4]. Subsequently, it was determined that both diseases are caused by the same etiological agent, *R. akari*, and that they share common clinical and epidemiological features, and similar ecological associations with peridomestic rodents and their mites [5]. Following its original discovery rickettsialpox received substantial attention from medical and public health professionals worldwide which then progressively diminished, possibly due to the relatively mild course of the illness and decreasing familiarity of clinicians with the disease, the availability of effective antibiotics and the broad use of pesticides for rodent control [1, 74, 75]. It was not until 2001 that widespread interest in rickettsialpox reemerged because of differential diagnostic considerations for its cutaneous lesions since the vesicular rash and later scab could lead to its misidentification as chickenpox, herpes, and/or anthrax [12, 41, 42, 58, 60, 84].

Clinical cases of rickettsialpox have been identified around the world, with the largest number of illnesses occurring in urban areas [4, 5, 41, 42, 44, 50, 57, 58, 68, 73, 76]; nevertheless, these largely sporadic cases do not approach the large numbers of cases diagnosed during the time of the original epidemic out-

breaks in New York City and Ukraine. In the United States, rickettsialpox is not a notifiable infectious disease [16], thus its current true morbidity there is not known. It is likely rickettsialpox is similarly under-recognized in most other regions of the world.

The purpose of this review is to evaluate the available classical and contemporary information related to the eco-epidemiological and clinical features of rickettsialpox and the biological and genetic characteristics of its etiological agent, *R. akari*, in order to outline critical gaps in our contemporary understanding of this neglected rickettsiosis and to define priorities for further research studies on this neglected disease and pathogen.

## *Rickettsia akari* and its characteristics

*Rickettsia akari* is an obligate intracellular bacterium in the Rickettsiaceae which shares many cellular and morphological characteristics with the core spotted fever group of rickettsiae [58]. The most recent classification based on its genetic attributes places *R. akari* in the so-called transitional group that also includes flea-borne *Rickettsia felis* and related organisms, *Rickettsia australis*, and *Rickettsia hoogstraalii* [31]. The genome of *R. akari* (strain Hartford CWPP) consists of a single 1,231,060-bp chromosome (GenBank accession number CP000847, with an estimated 1012 open reading frames and coding capacity of 75%) and a 24,429 bp plasmid which is highly related to the 26,608 bp plasmid of *R. australis* [23, 24; see also “Molecular typing of *R. akari*” in the “Original articles” section of current issue, pp. 497–505]. As in other *Rickettsia*, the three ribosomal RNA genes have a non-canonical arrangement where the 16S rRNA gene is separated from the 23S-5S rRNA operon.

The cellular structure of *R. akari* is similar to that of other species of the genus *Rickettsia*. Its cell wall consists of outer and inner membranes separated by a periplasmic space; the outermost surface structure forms a tetragonal capsule-like layer [31, 61] similar to the S-layer which was later studied morphologically in *R. prowazekii* and *R. rickettsii* [6, 77]. Staining and visualization of *R. akari* is best achieved using the Gimenez method or other protocols utilizing carbol basic fuchsin when using light microscopy or acridine orange stain or FITC conjugates with specific antibody in conjunction with fluorescence microscopy [33, 46].

Available isolates of *R. akari* from human, animals and mites have high levels of similarity when examined using microbiological, serological, protein and genetic tools [21, 22, 59, 68; see also “Molecular typing of *R. akari*” in the “Original article” section, p. 497–505]. This analysis suggests that a single ancestral strain of *R. akari* was spread globally with their rodent and rodent mite hosts. The revised status of *R. felis* and its near relatives, which have proven to have a “bushy” phylogeny, suggest our sampling of relatives of *R. akari* may be far from complete [14, 51].

## Pathogenesis

Similar to other *Rickettsia*, species *R. akari* infects the vascular endothelium; however, invasion of macrophages and monocytes plays significant roles in the pathogenesis of *R. akari* infection which triggers cell activation via TLR2 or TLR4 mechanisms [67, 79]. *Rickettsia akari* can invade cells of mammalian, arthropod and reptile origin; it enters the host cell through induced phagocytosis and induces formation of actin tails enabling intracellular movement, invasion of the host cell nucleus and cell-to-cell spread [3, 69]. Lytic plaques formed by *R. akari* in Vero cells and L929 mouse fibroblast cells are typically smaller and take longer to appear when compared to plaques formed by *R. rickettsii* and *R. conorii* [52, 81]. *Rickettsia akari* is tropic for human macrophages [80]; murine macrophages exhibit variable resistance to lethal effects of *R. akari* correlating with their levels of tumoricidal and antirickettsial activities [53, 54, 56]. Mouse strains with defective macrophage responses have a dominant negative mutation in the cytoplasmic domain of the TLR4 receptor, which may impact the diversity of native immune responses to this infection [35].

## Clinical manifestations and treatment

Rickettsialpox is an acute illness with clinical symptoms developing after a 9 to 14-day incubation period following the initial bite by an infected mite (summarized in [58]). Individuals infected with *R. akari* develop an initial non-itchy lesion at the site of the mite bite, which subsequently increases in size

and its center transforms into a vesicle containing fluid [34, 58]. This lesion eventually begins drying and turns into a dark eschar persisting for up to three weeks and presents as a dermal and epidermal necrosis [4, 34, 41, 58].

Clinical features of rickettsialpox include fever, chills, myalgia, headaches, and a papulovesicular rash [4, 34, 41, 58]. The rash was observed in all cases reported in the literature; it persists for 4 to 7 days and typically appears on the body trunk, but it is not present on the soles or palms [2, 4, 34]. Development of the vesicular rash on the palate of the mouth is one of the specific features of rickettsialpox [19]. Additional symptoms reported in the literature include vomiting, abdominal pain, weakness, profuse sweating, fatigue, conjunctivitis, and leukopenia [2, 4, 34, 42, 50, 57, 76, 84]. Enlargement and tenderness of regional lymph nodes is common; lymphangitis has been described for some cases diagnosed in the Ukraine [4] but is commonly absent in patients from other regions. Photophobia, pain during eye movement, and nuchal rigidity were also noted in patients from Northern Europe [73]. Hepatitis is another symptom diagnosed in several recent cases [50, 84]. Other severe symptoms such as vaginal and gingival bleeding were reported in patients from Mexico [84]; however, it is not known at present if this specific symptomatology is due to a strain variant of *R. akari*, due to delayed diagnosis or other underlying factors responsible for enhanced susceptibility to this rickettsial infection. Most clinical cases of rickettsialpox reported in the literature recovered completely after a course of antibiotics, either tetracycline or chloramphenicol, or recovered without treatment [2, 41, 42]. Residual scarification may remain at the site of the eschar in some cases.

## Geographic distribution

Rickettsialpox cases have been recorded worldwide. In the western hemisphere most of the reports originated from the United States, although this mild disease is not a nationally notifiable infectious disease in the U.S. [34, 41, 42, 44, 50, 66, 76]. The first rickettsialpox outbreak was reported in Queens, New York where 144 non-fatal cases were recorded in 1946. Four years later, in 1950, a case of rickettsialpox was identified in Boston Massachusetts in a female that had not traveled recently to New York and had no previous signs of symptoms for the disease [66], thus indicating another endemic focus of the disease existed in the USA beside New York City. Confirmation of diagnosis was made using the complement fixation test, just as in the first reports in New York City. As of July of 1952, 724 cases of rickettsialpox had been reported to the New York City Health Department [9]; occurrence of rickettsialpox was also confirmed in several other cities of the northeastern part of the USA. Only sporadic cases were identified

in the following decades and the most western case of rickettsialpox was reported from Utah in 1961 [45].

New York City has remained the most active place for reporting and diagnosis of rickettsialpox throughout the entire history of this disease. Several reports of rickettsialpox in the Bronx, New York exist in the literature [41, 50, 76]. During 1980 to 1989, 13 cases of rickettsialpox were diagnosed at the Lincoln Hospital, Bronx, NY using indirect and direct immunofluorescence methods [41]. From 2001 to 2002, three infected female residents of Brooklyn and the Bronx had a confirmed diagnosis of rickettsialpox by IFA from serum samples and IHC from a biopsy [76]. The patients reported seeing mice in their apartment units, and one of them reported the presence of small bugs in the same area where the mice were observed [76]. Similarly, a second report of rickettsialpox in New York City described this disease as occurring predominantly in residents from the Bronx and Manhattan; there were 34 confirmed cases diagnosed using IFA, IHC, and PCR during that period [60]. In 2004, two female patients diagnosed with rickettsialpox from the Bronx, NY reported contact with mouse droppings in their work area [50]. Another United States case was in North Carolina, where the patient suggested the possibility of contact with mites at the workplace where a stray cat brought dead mice [44].

In Central America, exposure to *R. akari* has been reported in Costa Rica based on serological data generated using a microagglutination test; at least 3 positive serum specimens were identified in 507 (0.6% prevalence) samples tested [64]. Most recently severe cases of rickettsialpox were confirmed in Yucatan, Mexico using IFA, and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyses of the PCR amplified DNA fragments [84]. The Yucatan cases were first suspected to be dengue fever and managed as an arbovirus infection; a pediatric patient suffering from vaginal and gingival bleeding required admission to the intensive care unit.

The distribution of rickettsialpox in the Old World spans a wider territory. More than 1000 cases were recorded in Ukraine during the original outbreak of 1949–1950 [72], but follow-up case records are not available; this disease is not reportable in the Ukraine and Russia [7]. There are also reports of serological evidence of exposure to *R. akari* in Bosnia-Herzegovina [28], Albania [11], Germany [81], and France [13]; however, no clinical case reports have been published from those countries. On the other hand, contemporary circulation of *R. akari* in Europe has been confirmed in Croatia (former Yugoslavia) [68], Turkey [57], and the Netherlands [73]. In May of 1991 the first Croatian case of rickettsialpox was diagnosed in a 36-year old male using serology and culture isolation [68]. This was the first report of *R. akari* in Western Europe with symptomatology consistent with cases reported in the United States and Ukraine

with an exception that an eschar was not detected in the Croatian patient [68]. In 2003, a 9-year old boy from Turkey was believed to be infected with *R. akari* after exposure to rats on the family farm; the clinical diagnosis was confirmed by cross-absorption serological testing [57]. In July 2009, a 51-year old male was serologically diagnosed with rickettsialpox in the Netherlands [73].

Exposure to *R. akari* and occurrence of rickettsialpox has been suggested based on serological findings in several countries in Africa [30, 47, 48], including more recently in South Africa where exposure occurred for two presumed travel cases in Italian tourists [29]. Le Gac et al. (1952) described a family cluster of 16 presumed cases of rickettsialpox including 4 fatalities in members of the Baya tribe in the present Central African Republic [48]. The patients had symptomologies compatible with rickettsialpox including eschar and vesicular rash, and at least 5 out of 8 tested seroconverted to *R. akari* antigen as determined using the microagglutination method with sera collected on day 24 after onset of illness. Guinea pigs inoculated with one patient's blood developed a febrile illness and seroconverted to *R. akari*. However, the authors noticed atypical manifestations of the eschar (much larger, with deeper necrotic damages and scarification) in indigenous African patients compared to the classic description of eschars observed in patients of Caucasian and Hispanic origin [4, 34]. Since other rickettsioses than rickettsialpox are known now to occur in the same region [62], the actual etiology of this illness remains unconfirmed.

The endemicity of rickettsialpox in Korea was shown by isolation of *R. akari* from a vole in 1952 [40]. Recent evidence for circulation of *R. akari* or closely-related organism(s) in that region has come from serological and PCR findings in epidemiological and ecological survey projects [17, 18].

Follow-up studies with isolation of putative strains of *R. akari* in Central and South America, Africa and Asia are needed to determine the closeness of their relationship to strains recovered in Europe and North America.

## Vector-transmission and ecology

The house mouse mite, *Liponissoides sanguineus*, has been recognized as a competent vector and reservoir of *R. akari* [27, 37] in which it is maintained by transovarial and transtadial transmission. The mite *L. sanguineus* is an opportunistic blood-sucking ectoparasite, commonly found in areas infested by rodents, such as harborages and burrows, and cracks and crevices in nearby places [1, 26, 58]. The lifecycle of *L. sanguineus* was described in 1954 by H.S. Fuller [26]. The eggs of mouse mites develop for 4 to 5 days, molting successively into larvae, protonymph, deutonymph, and finally the adult stage for a complete cycle in 51 to 63 days. During the egg and larval stag-

es, mites do not take blood meals [26]. Nymphs and adult mites attach to the host and feed for 15 to 36 hours and detach upon repletion [39]; when a new blood meal is needed, the mite finds its host and bites again.

The house mouse *Mus musculus* is the typical urban host for the mite *L. sanguineus* [1, 2, 4, 27, 37]. House mice collected in New York City and Boston, Massachusetts had antibodies reactive to *R. akari* [27, 38], and an *R. akari* isolate was established from a mouse trapped in an endemic focus in Ukraine [2, 4, 21]. *L. sanguineus* can also feed on peridomestic rats which can also serve as an animal reservoir for *R. akari*; this has been confirmed by isolation of *R. akari* from *R. norvegicus* and *R. rattus* [2, 4, 21].

Humans get infested when natural mite rodent hosts are not available and mites are forced to cross species barriers and feed on a human host or other suitable animals [10, 43]. Severe mite infestations cause debility and anemia in rodents (cited in [80]) and may be responsible for rodent mite dermatitis in humans. The presence of mites is often first perceived during various repair and facility remodeling work that has disturbed peridomestic rodents [80] or it is associated with rodent disease-related perturbations or eradication efforts [43]. *L. sanguineus* were found to infest diverse laboratory rodents and rodents sold in a pet store [49, 80]; these scenarios may pose a risk of occupational exposure for veterinarians and animal handlers. Handling suspensions of *R. akari* in laboratory settings without necessary precautions may lead to exposure and onset of infections even in individuals immune to *R. rickettsii* or *R. prowazekii* [78].

*L. sanguineus* can be found on a variety of wild rodents [25, 58], and may feed on large animals like cats and dogs, as suggested by detection of antibodies in the latter which were reactive with *R. akari* in California, Wisconsin and New York [8, 15, 20]. A role for dogs in the circulation of *R. akari* has been recently suggested in a report from Yucatan describing detection of *R. akari* DNA in the bloodstream of a severely ill dog and simultaneously in a tick collected from the same dog; however, there was no report of mites on the same animal [85].

The tropical rat mite, *Liponyssus bacoti* may acquire *R. akari* from rickettsiemic mice in an experimental setting and maintain it transovarially; however, it is not considered to be a competent vector for this pathogen despite the observations that *R. akari* may persist in the infested mite colony for at least 34 days [65]. A role for these mites in environmental maintenance of *R. akari* has not yet been demonstrated. Similarly, *R. akari* can establish a long-lasting infection of midgut and coelom of human body lice infected through rectal inoculation; this outcome is in marked contrast to the fatal infections of body lice caused by *R. prowazekii* [82]; susceptibility of human head lice to *R. akari* has not been evaluated.

Beside *L. sanguineus*, *R. akari* may have a range of vector associations as suggested by the detection of *R. akari* DNA in trombiculid mites collected from *Apodemus agrarius* and *Crocidura lasiura* in several areas of Korea [17]. The isolation of *R. akari* from the reed vole, *Microtus fortis pelliceus* [40] trapped in Korea in 1952 suggests the possible existence of natural cycles independent of man or commensal rodents; however, this presumption needs further evaluation. Involvement of *Laelaps nuttalli* (Hirst, 1915) in maintenance of *R. akari* was suggested during a focal outbreak of rickettsialpox in a village of L'Oubangui-Chari (present Central African Republic) where large numbers of these mites were found in wall crevices and on rodents trapped in the patient houses [48]. This mite occurs throughout the world as a parasite of the black rat, *R. rattus*, the brown rat, *R. norvegicus* and occasionally of other rodents and small mammals and is thought to harbor some pathogens typically associated with these rodents [55].

## Rickettsialpox: emerging issues, new directions, and public health research

Over seventy years ago and almost simultaneously the world experienced two major outbreaks of rickettsialpox — in New York City, one of the largest metropolitan centers in the world, and in a southern city of the Ukraine. A shortage of adequate urban housing existed during and following World War II, and intimate contact between mice, their ectoparasites and man was a critical factor in these outbreaks. With lessened human population density and greater rodent control efforts, less contact between man and mice has resulted in an apparent decrease in the incidence of the disease [63]. Rickettsialpox is peculiar among known rickettsial diseases due to its urban character and mouse mite associations; however, the benign course of the illness is probably most responsible for the neglected status of this disease. The current literature confirms the continued cosmopolitan distribution of *R. akari*, *L. sanguineus*, and peridomestic rodents, thus suggesting that many unrecognized cases of rickettsialpox may occur. It would require a concerted effort of medical and public health staff with a focus on eschar-associated diseases and use of contemporary laboratory diagnostic methods to complete the etiological identification and characterization of disease with this organism. Such work could establish current traits of susceptible human and rodent populations and strains of *R. akari* and thus redefine the modern risk factors facilitating exposure to these organisms and better recognition of the variable clinical manifestations of rickettsialpox.

Our review data suggests that only limited genetic diversity exists among the available isolates of *R. akari* associated with previous outbreaks between 1948

and 2004; however, additional effort is still required to define specific genetic markers permitting direct surveillance, tracking and studying of the vector and host associations of contemporary isolates. Use of molecular methods should be applied to survey various collections of mites beyond *L. sanguineus* to determine the true diversity of mite-associated rickettsiae and related organisms. Limited reports from Korea and China indicate that multiple species of mites may be infected with *R. akari* or *R. akari*-like organisms [17, 18, 36] and other rickettsial agents in the USA and elsewhere [70, 71], but those findings need additional analysis, validation and interpretation using the same and/or larger sets of genes or whole genome sequences followed by making isolates and examination of their biological characteristics. Once associations of *R. akari* with other ectoparasites are established, it will be important to determine if there are wildlife reservoirs in other species for *R. akari* or related pathogens, and if disturbance of the balance of these interactions can be responsible for outbreaks of rickettsialpox-like illnesses in non-urban settings.

The identification of *R. akari* DNA and antibodies in dogs in Mexico and New York City highlights the need for increased surveillance for rickettsialpox using a One Health perspective [20, 85]. If domestic animals such as dogs can be severely affected by

infection with *R. akari*, further investigations need to be targeted at the identification of *R. akari* in domestic and stray dogs, and wild canines. If common-place infection with *R. akari* in dogs is confirmed by additional research, public health measures to examine stray dog populations should be considered by coordinating public health, veterinary and wildlife professionals. This might require a change in current prevention methods for rickettsialpox to include vector elimination from canines. The capacity of *R. akari* to cross vector species emphasizes the potential for possible detection of outbreaks of the disease in new regions of the world and in novel ecological settings. An increased awareness of rickettsialpox will require interest and enhanced effort by the scientific, public health, veterinary and medical communities or it will remain a largely neglected and largely unappreciated illness affecting an unknown number of victims.

## Acknowledgements

Kamalich Muniz-Rodriguez contributed to this paper in partial fulfillment of the requirements for the Doctor of Public Health degree. We thank Gregory A. Dasch for his close reading of the paper and suggestions.

## Список литературы/References

1. Киселев Р.И., Волчанецкая Г.И. Сплошная дератизация и дезинсекция как метод борьбы с заболеваемостью оспоподобным риккетсиозом // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1954. № 12. С. 28–33. [Kiselev R.I., Voltchanetskaya G.I. Complete elimination of rats and mites as the means of prevention of vesicular rickettsiosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1955, no. 12, pp. 28–33. (In Russ.)]
2. Киселев Р.И., Жданов В.М., Александрова Н.Н. К клинико-эпидемиологической характеристике оспоподобного риккетсиоза // Сб. тр. Харьковского НИИ вакцин и сывороток имени Мечникова. 1954. Т. XX. С. 253–257. [Kiselev R.I., Zhdanov V.M., Alexandrova N.N. Clinical and epidemiological characteristics of vesicular rickettsiosis. *Sbornik trudov Khar'kovskogo NII vaksini i syvorotok imeni Mechnikova = Annals of Kharkov Mechnikov Research Institute*, 1954, vol. XX, pp. 253–257. (In Russ.)]
3. Кокорин И.Н., Киет Ч.Д. Прижизненные наблюдения и микросъемка внутриклеточного развития *D. murinus* и взаимодействие его с клетками // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1976. Т. 5. С. 50–52. [Kokorin I.N., Kiet C.D. Vital observations and microcinematography of the intracellular development of *D. murinus* and its interaction with cells. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1976, no. 5, pp. 50–52. (In Russ.)]
4. Кулагин С.М. К характеристике эндемических риккетсиозов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1952. Т. 12. С. 3–10. [Kulagin S.M. Characteristics of endemic rickettsiosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1952, no. 12, pp. 3–10. (In Russ.)]
5. Леви М.И., Киселев Р.И., Чуева Г.И., Кислякова Л.Н. К эпидемиологии везикулезного (оспоподобного) риккетсиоза. Сб. тр. Харьковского НИИ вакцин и сывороток имени Мечникова. 1954. Т. XX. С. 285–291. [Levi M.I., Kiselev R.I., Tchueva G.I., Kislyakova L.N. Epidemiology of vesicular rickettsiosis. *Sbornik trudov Khar'kovskogo NII vaksini i syvorotok imeni Mechnikova = Annals of Kharkov Mechnikov Research Institute*, 1954, vol. XX, pp. 285–291. (In Russ.)]
6. Попов В.Л., Бархатова О.И. Взаимодействие *Rickettsia akari* с клеткой-хозяином in vitro: размножение, образование сферопластоподобных форм и деструкция в фаголизосомах // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1984. Т. 2. С. 23–27. [Popov V.L., Barkhatova O.I. Interaction of *Rickettsia akari* with the host cell in vitro: multiplication, formation of spheroplast-like forms and its destruction in phagolysosomes. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1984, no. 2, pp. 23–27. (In Russ.)]
7. Роспотребнадзор. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за январь–декабрь 2018 г. [Rosпотребнадзор. Morbidity of infectious diseases in Russian Federation in January–December of 2018 (In Russ.)]
8. Bennett S.G., Comer J.A., Smith H.M., Webb J.P. Serologic evidence of a *Rickettsia akari*-like infection among wild-caught rodents in Orange County and humans in Los Angeles County, California. *J. Vector Ecology*, 2007, vol. 32, no. 2, pp. 198–201.
9. Blattner R.J. Spread of rickettsialpox. *J. Pediatr.*, 1953, vol. 46, no. 3, pp. 740–742.

10. Brettman L.R., Lewin S., Holzman R.S., Goldman W.D., Marr J.S., Kechijian P., Schinella R. Rickettsialpox — report of an outbreak and a contemporary review. *Medicine*, 1981, vol. 60, no. 5, pp. 363–372.
11. Brezina R., Urvolgyi J., Rosicky B., Cilka S., Dushniku N., Naracik K., Dishinica G. Rickettsioses and infections caused by viruses of the psittacosis-ornithosis-mammalian pneumonia group in Albania. *J. Hyg. Epid. Microbiol. Immunol.*, 1961, no. 5, pp. 85–88.
12. Brouqui P., Parola P., Fournier P.E., Raoult D. Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2007, vol. 49, no. 1, pp. 2–12. doi: 10.1111/j.1574-695X.2006.00138.x
13. Brouqui P., Stein A., Dupont H.T., Gallian P., Badiaga S., Rolain J.M., Mege J.L., La Scola B., Berbis P., Raoult D. Ectoparasitism and vector-borne diseases in 930 homeless people from Marseilles. *Medicine (Baltimore)*, 2005, vol. 84, no. 1, pp. 61–68. doi: 10.1097/01.md.0000152373.07500.6e
14. Brown L.D., Macaluso K.R. Rickettsia felis, an emerging flea-borne rickettsiosis. *Curr. Trop. Med. Rep.*, 2016, vol. 3, pp. 27–39. doi: 10.1007/s40475-016-0070-6
15. Case J.B., Chomel B., Nicholson W., Foley J.E. Serological survey of vector-borne zoonotic pathogens in pet cats and cats from animal shelters and feral colonies. *J. Feline Med. Surg.*, 2006, vol. 8, no. 2, pp. 111–117. doi: 10.1016/j.jfms.2005.10.004
16. Centers for Disease Control and Prevention. National Notifiable Diseases Surveillance System, 2017 Annual Tables of Infectious Disease Data. Atlanta, GA: CDC Division of Health Informatics and Surveillance, 2018.
17. Choi Y.J., Lee E.M., Park J.M., Lee K.M., Han S.H., Kim J.K., Lee S.H., Song H.J., Choi M.S., Kim I.S., Park K.H., Jang W.J. Molecular detection of various rickettsiae in mites (Acari: Trombiculidae) in southern Jeolla Province, Korea. *Microbiol. Immunol.*, 2007, vol. 51, no. 3, pp. 307–312. doi: 10.1111/j.1348-0421.2007.tb03912.x
18. Choi Y.J., Lee S.H., Park K.H., Koh Y.S., Lee K.H., Baik H.S., Choi M.S., Kim I.S., Jang W.J. Evaluation of PCR-based assay for diagnosis of spotted fever group rickettsiosis in human serum samples. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2005, vol. 12, no. 6, pp. 759–763. doi: 10.1128/CDLI.12.6.759-763.2005
19. Colman R.S. Rickettsialpox — a new rickettsial disease with oral manifestations; review of literature and case report. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 1950, vol. 3, no. 10, pp. 1257–1259. doi: 10.1016/0030-4220(50)90374-4
20. Comer J.A., Vargas M.C., Poshni I., Childs J.E. Serologic evidence of Rickettsia akari infection among dogs in a metropolitan city. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2001, vol. 218, no. 11, pp. 1780–1782. doi: 10.2460/javma.2001.218.1780
21. Ereemeeva M., Balayeva N., Ignatovich V., Raoult D. Genomic study of Rickettsia akari by pulsed-field gel electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.*, 1995, vol. 33, no. 11, pp. 3022–3024.
22. Ereemeeva M.E., Balayeva N.M., Ignatovich V.F., Raoult D. Proteinic and genomic identification of spotted fever group rickettsiae isolated in the former USSR. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, vol. 31, no. 10, pp. 2625–2633.
23. Ereemeeva M.E., Madan A., Halsell T., Dasch G.A. Sequencing and characterization of pRAK1, 24.4 Kb plasmid from Rickettsia akari. Abstract #81. 20<sup>th</sup> Meeting of the American Society for Rickettsiology. Colorado Springs, CO: American Society for Rickettsiology, 2007.
24. Ereemeeva M.E., Madan A., Shaw C.D., Tang K., Dasch G.A. New perspectives on rickettsial evolution from new genome sequences of rickettsia, particularly R. canadensis, and Orientia tsutsugamushi. *Annals of New York Academy of Sciences*, 2005, vol. 1063, pp. 47–63. doi: 10.1196/annals.1355.006
25. Fuehrer H.P., Igel P., Treiber M., Baumann T.A., Riedl J., Swoboda P., Joachim A., Noedl H. Ectoparasites of livestock, dogs, and wild rodents in the Chittagong Hill Tracts in southeastern Bangladesh. *Parasitol Res.*, 2012, vol. 111, no. 4, pp. 1867–1870. doi: 10.1007/s00436-012-2940-8
26. Fuller H.S. Studies of rickettsialpox. 3. Life cycle of the mite vector, Allodermanyssus-sanguineus. *Am. J. Hyg.*, 1954, vol. 59, no. 2, pp. 236–239.
27. Fuller H.S., Murray E.S., Ayres J.C., Snyder J.C., Potash L. Studies of Rickettsialpox: I: Recovery of the causative agent from house mice in Boston, Massachusetts. *Am. J. Hyg.*, 1951, vol. 54, no. 1, pp. 82–100.
28. Gaon J., Terzin A.L. 1956. Some viral and rickettsial infections in Bosnia and Herzegovina; a sero-epidemiological study. *Bull. World Health Organ.*, 1956, vol. 15, no. 1–2, pp. 299–316.
29. Garavelli P.L. Rickettsialpox: descrizione di due casi clinici importati dal Sud Africa. *Recenti Prog Med.*, 2005, vol. 96, no. 12, pp. 609–610.
30. Gear J. The rickettsial diseases of Southern Africa; a review of recent studies. *S. Afr. J. Clin. Sci.*, 1954, vol. 5, no. 3, pp. 158–175.
31. Gillespie J.J., Williams K., Shukla M., Snyder E.E., Nordberg E.K., Ceraul S.M., Dharmanolla C., Rainey D., Soneja J., Shallom J.M., Vishnubhat N.D., Wattam R., Purkayastha, A., Czar M., Crasta O., Setubal J.C., Azad A.F., Sobral B.S. Rickettsia phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. *PLoS One*, 2008, vol. 3, no. 4: e2018. doi: 10.1371/journal.pone.0002018
32. Gilmore R.D. Jr. Comparison of the rompA gene repeat regions of Rickettsiae reveals species-specific arrangements of individual repeating units. *Gene*, 1993, vol. 125, no. 1, pp. 97–102. doi: 10.1016/0378-1119(93)90752-o
33. Gimenez D.F. Staining rickettsiae in yolk-sac cultures. *Stain Technol.*, 1964, vol. 39, pp. 135–140. doi: 10.3109/10520296409061219
34. Greenberg M., Pellitteri O., Klein I.F., Huebner R.J. Rickettsialpox: a newly recognized rickettsial disease: II. Clinical observations. *J. Am. Med. Assoc.*, 1947, vol. 133, no. 13, pp. 901–906.
35. Hoshino K., Takeuchi O., Kawai T., Sanjo H., Ogawa T., Takeda Y., Takeda K., Akira S. Cutting edge: toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J. Immunol.*, 1999, vol. 162, no. 7, pp. 3749–3752.
36. Huang Y., Zhao L., Zhang Z., Liu M., Xue Z., Ma D., Sun X., Sun Y., Zhou C., Qin X., Zhu Y., Li W., Yu H., Yu X.J. Detection of a novel Rickettsia from Leptotrombidium scutellare mites (Acari: Trombiculidae) from Shandong of China. *J. Med. Entomol.*, 2017, vol. 54, no. 3, pp. 544–549. doi: 10.1093/jme/tjw234
37. Huebner R.J., Jellison W.L., Armstrong C. Rickettsialpox: A newly recognized rickettsial disease: V. Recovery of Rickettsia akari from a house mouse (Mus musculus). *Public Health Rep.*, 1947, vol. 62, no. 22, pp. 777–780.

38. Huebner R.J., Jellison W.L., Charles P. Rickettsialpox: A newly recognized rickettsial disease: IV. Isolation of a Rickettsia apparently identical with the sautes agent of rickettsialpox from *Allodermanyssus sanguineus*, a rodent mite. *Public Health Rep.*, 1946, vol. 61, no. 47, pp. 1677–1682.
39. Huebner R.J., Peggy S., Armstrong C. Rickettsialpox: A newly recognized rickettsial disease: I. Isolation of the etiological agent. *Public Health Rep.*, 1946, vol. 61, no. 45, pp. 1605–1614.
40. Jackson E.B., Danauskas J.X., Coale M.C., Smadel J.E. Recovery of Rickettsia akari from the Korean reed vole *Microtus fortis pelliceus*. *Am. J. Hyg.*, 1957, vol. 66, no. 3, pp. 301–308.
41. Kass E.M., Szaniawski W.K., Levy H., Leach J., Srinivasan K., Rives C. Rickettsialpox in a New York City hospital, 1980 to 1989. *N. Engl. J. Med.*, 1994, vol. 331, no. 24, pp. 1612–1617. doi: 10.1056/NEJM199412153312403
42. Koss T., Carter E.L., Grossman M.E., Silvers D.N., Rabinowitz A.D., Singleton J. Jr., Zaki S.R., Paddock C.D. Increased detection of rickettsialpox in a New York City hospital following the anthrax outbreak of 2001: use of immunohistochemistry for the rapid confirmation of cases in an era of bioterrorism. *Arch. Derm.*, 2003, vol. 139, no. 12, pp. 1545–1552. doi: 10.1001/archderm.139.12.1545
43. Krinsky W.L. Does epizootic lymphocytic choriomeningitis prime the pump for epidemic rickettsialpox? *Rev. Infect. Dis.*, 1983, vol. 5, no. 6, pp. 1118–1119. doi: 10.1093/clinids/5.6.1118
44. Krusell A., Comer J.A., Sexton D.J. Rickettsialpox in North Carolina: a case report. *Emerg. Infect. Dis.*, 2002, vol. 8, no. 7, pp. 727–728. doi: 10.3201/eid0807.010501
45. Lackman D.B. A review of information on rickettsialpox in the United States. *Clin. Pediatr. (Phila.)*, 1963, vol. 2, no. 6, pp. 296–301. doi: 10.1177/000992286300200602
46. Lauer B.A., Reller L.B., Mirrett S. Comparison of acridine orange and Gram stains for detection of microorganisms in cerebrospinal fluid and other clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 1981, vol. 14, no. 2, pp. 201–205.
47. Le Gac P., Giroud P. Rickettsiose vesiculeuse en Oubangui-Chari (A.E.F.). *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique et de ses Filiales*, 1951, vol. 44, no. 7–8, pp. 413–415.
48. Le Gac P., Giroud P., Le Henaff A., Baup G. Epidemie familiale de rickettsiose varicelliforme dans un village de l'Oubangui-Chari (A.E.F.). *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique et de ses Filiales*, 1952, vol. 45, no. 1, pp. 19–23.
49. Levine J.F., Lage A.L. House mouse mites infesting laboratory rodents. *Lab. Anim. Sci.*, 1984, vol. 34, no. 4, pp. 393–394.
50. Madison G., Kim-Schluger L., Braverman S., Nicholson W.L., Wormseri G.P. Hepatitis in association with rickettsialpox. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2008, vol. 8, no. 1, pp. 111–115. doi: 10.1089/vbz.2007.0135
51. Maina A.N., Jiang J., Luce-Fedrow A., St John H.K., Farris C.M., Richards A.L. Worldwide presence and features of flea-borne Rickettsia asembonensis. *Front. Vet. Sci.*, 2019, vol. 5, p. 334. doi: 10.3389/fvets.2018.00334
52. McDade J.E., Stakebake J.R., Gerone P.J. Plaque assay system for several species of Rickettsia. *J. Bacteriol.*, 1969, vol. 99, no. 3, pp. 910–912.
53. Meltzer M.S., Nacy C.A. Macrophages in resistance to rickettsial infection: susceptibility to lethal effects of Rickettsia akari infection in mouse strains with defective macrophage function. *Cell. Immunol.*, 1980, vol. 54, no. 2, pp. 487–490. doi: 10.1016/0008-8749(80)90229-4
54. Meltzer M.S., Nacy C.A., Stevenson M.M., Skamene E. Macrophages in resistance to rickettsial infections: genetic analysis of susceptibility to lethal effects of Rickettsia akari infection and development of activated, cytotoxic macrophages in A and B10.a mice. *J. Immunol.*, 1982, vol. 129, no. 4, pp. 1719–1723.
55. Montasser A.A. Redescription of female Laelaps nuttalli Hirst, 1915 (Acari: Dermanyssoidea: Laelapidae) with emphasis on its gnathosoma, sense organs and pulvilli. *ISRN Parasitology*, 2013: 642350. doi: 10.5402/2013/642350
56. Nacy C.A., Meltzer M.S. Macrophages in resistance to rickettsial infection: strains of mice susceptible to the lethal effects of Rickettsia akari show defective macrophage rickettsicidal activity in vitro. *Infect. Immun.*, 1982, vol. 36, no. 3, pp. 1096–1101.
57. Ozturk M.K., Gunes T., Kose M., Coker C., Radulovic S. Rickettsialpox in Turkey. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003, vol. 9, no. 11, pp. 1498–1499. doi: 10.3201/eid0911.030224
58. Paddock C.D., Ereemeeva M.E. Rickettsialpox. In: Rickettsial Diseases. Eds. Parola P., Raoult D. *CRC Press*, 2007, pp. 63–86.
59. Paddock C.D., Koss T., Ereemeeva M.E., Dasch G.A., Zaki S.R., Sumner J.W. Isolation of Rickettsia akari from eschars of patients with rickettsialpox. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2006, vol. 75, no. 4, pp. 732–738.
60. Paddock C.D., Zaki S.R., Koss T., Singleton J. Jr., Sumner J.W., Comer J.A., Ereemeeva M.E., Dasch G.A., Cherry B., Childs J.E. Rickettsialpox in New York City: a persistent urban zoonosis. *Annals of New York Academy of Sciences*, 2003, vol. 990, pp. 36–44. doi: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07334.x
61. Palmer E.L., Martin M.L., Mallavia L. Ultrastructure of the surface of Rickettsia prowazeki and Rickettsia akari. *Appl. Microbiol.*, 1974, vol. 28, no. 4, pp. 713–716.
62. Parola P., Paddock C.D., Socolovschi C., Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T., Abdad M.Y., Stenos J., Bitam I., Fournier P.E., Raoult D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2013, vol. 26, no. 4, pp. 657–702. doi: 10.1128/CMR.00032-13
63. Paterson P.Y., Taylor W. Rickettsialpox. *Bull. NY Acad. Med.*, 1966, vol. 42, no. 7, pp. 579–587.
64. Peacock M.G., Ormsbee R.A., Johnson K.M. Rickettsioses of Central America. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1971, vol. 20, no. 6, pp. 941–949. doi: 10.4269/ajtmh.1971.20.941
65. Philip C.B., Hughes L.E. The tropical rat mite, Liponyssus-bacoti, as an experimental vector of rickettsialpox. *Am. J. Trop. Med.*, 1948, vol. 28, no. 5, pp. 697–705. doi: 10.4269/ajtmh.1948.s1-28.697
66. Pike G., Cohen S., Murray E.S. Rickettsialpox — report of a serologically proved case occurring in a resident of Boston. *N. Engl. J. Med.*, 1950, vol. 243, no. 23, pp. 913–915. doi: 10.1056/NEJM195012072432304
67. Quevedo-Diaz M.A., Song C., Xiong Y., Chen H., Wahl L.M., Radulovic S., Medvedev A.E. Involvement of TLR2 and TLR4 in cell responses to Rickettsia akari. *J. Leukoc. Biol.*, 2010, vol. 88, no. 4, pp. 675–685. doi: 10.1189/jlb.1009674
68. Radulovic S., Feng H.M., Morovic M., Djelalija B., Popov V., Crocquet-Valdes P., Walker D.H. Isolation of Rickettsia akari from a patient in a region where Mediterranean spotted fever is endemic. *Clin. Infect. Dis.*, 1996, vol. 22, no. 2, pp. 216–220. doi: 10.1093/clinids/22.2.216

69. Radulovic S., Price P.W., Beier M.S., Gaywee J., Macaluso J.A., Azad A. Rickettsia-macrophage interactions: host cell responses to *Rickettsia akari* and *Rickettsia typhi*. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, no. 5, pp. 2576–2582. doi: 10.1128/iai.70.5.2576-2582.2002
70. Reeves W.K., Dowling A.P., Dasch G.A. Rickettsial agents from parasitic dermanysoidea (Acari: Mesostigmata). *Exp. Appl. Acarol.*, 2006, vol. 38, no. 2–3, pp. 181–188. doi: 10.1007/s10493-006-0007-1
71. Reeves W.K., Loftis A.D., Szumlas D.E., Abbassy M.M., Helmy I.M., Hanafi H.A., Dasch G.A. Rickettsial pathogens in the tropical rat mite *Ornithonyssus bacoti* (Acari: Macronyssidae) from Egyptian rats (*Rattus* spp.). *Exp. Appl. Acarol.*, 2007, vol. 41, no. 1–2, pp. 101–107. doi: 10.1007/s10493-006-9040-3
72. Řeháček J., Tarasevich I.V. *Rickettsia akari*. In: Akari-borne rickettsiae and rickettsioses in Eurasia. Ed. Gresikova M. Bratislava: Veda, Publishing House of the Slovak Academy of Sciences, 1988, pp. 128–145.
73. Renvoise A., van't Wout J.W., van der Schroeff J.G., Beersma M.F., Raoult D. A case of rickettsialpox in Northern Europe. *Int. J. Infect. Dis.*, 2012, vol. 16, no. 3, pp. E221–E222. doi: 10.1016/j.ijid.2011.11.009
74. Rose H.M. The experimental and clinical evaluation of terramycin against *Rickettsia akari* (rickettsialpox). *Ann. NY Acad. Sci.*, 1950, vol. 53, no. 2, pp. 385–394. doi: 10.1111/j.1749-6632.1950.tb42173.x
75. Rose H.M., Kneeland Y. Jr., Gibson C.D. Treatment of rickettsialpox with aureomycin. *Am. J. Med.*, 1950, vol. 9, no. 3, pp. 300–307. doi: 10.1016/0002-9343(50)90426-8
76. Saini R., Pui J.C., Burgin S. Rickettsialpox: report of three cases and a review. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2004, vol. 51, no. 5, pp. S65–S70. doi: 10.1016/j.jaad.2004.03.036
77. Silverman D.J., Wisseman C.L. Jr. Comparative ultrastructural study on the cell envelopes of *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia rickettsii*, and *Rickettsia tsutsugamushi*. *Infect. Immun.*, 1978, vol. 21, no. 3, pp. 1020–1023.
78. Slesinger M.H., Murray E.S., Cohen S. Rickettsialpox case due to laboratory infection. *Public Health Rep.*, 1951, vol. 66, no. 10, pp. 311–316.
79. Walker D.H., Hudnall S.D., Szaniawski W.K., Feng H.M. Monoclonal antibody-based immunohistochemical diagnosis of rickettsialpox: the macrophage is the principal target. *Mod. Pathol.*, 1999, vol. 12, no. 5, pp. 529–533.
80. Watson J. New building, old parasite: Mesostigmatid mites — an ever-present threat to barrier facilities. *ILAR J.*, 2008, vol. 49, no. 3, pp. 303–309. doi: 10.1093/ilar.49.3.303
81. Weber K. Serological study with rickettsial antigens in erythema chronicum migrans. *Dermatologica*, 1981, vol. 163, no. 6, pp. 460–467. doi: 10.1159/000250216
82. Weyer F. The behavior of *Rickettsia akari* in the body louse after artificial infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1952, vol. 1, no. 5, pp. 809–820. doi: 10.4269/ajtmh.1952.1.809
83. Wike D.A., Tallent G., Peacock M.G., Ormsbee R.A. 1972. Studies of the rickettsial plaque assay technique. *Infect. Immun.*, 1972, vol. 5, no. 5, pp. 715–722.
84. Zavala-Castro J.E., Zavala-Velázquez J.E., Peniche-Lara G.F., Sulú Uicab J.E. Human Rickettsialpox, Southeastern Mexico. *Emerg. Infect. Dis.*, 2009, vol. 15, no. 10, pp. 1665–1667. doi: 10.3201/eid1510.081507
85. Zavala-Castro J.E., Zavala-Velázquez J.E., del Rosario Garcia M., Arias Leon J.J., Dzul-Rosado K.R. A dog naturally infected with *Rickettsia akari* in Yucatan, Mexico. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2009, vol. 9, no. 3, pp. 345–347. doi: 10.1089/vbz.2008.0189

**Авторы:**

**Еремеева М.Е.**, д.б.н., профессор, зав. лабораторией, Колледж народного здравоохранения им. Цзянн-Пин Хсу, Университет Южной Джорджии, Джорджия, Стейтсборо, США;  
**Мунис-Родригес К.**, магистр общественного здравоохранения, аспирант, Университет Южной Джорджии, Джорджия, Стейтсборо, США.

**Authors:**

**Eremeeva M.E.**, PhD, MD (Biochemistry), Professor, Laboratory Director, Jiann-Ping Hsu College of Public Health, Georgia Southern University, Statesboro, GA, USA;  
**Muniz-Rodriguez K.**, MPH, Graduate Student, Georgia Southern University, Statesboro, GA, USA.

Поступила в редакцию 01.11.2019  
 Отправлена на доработку 13.02.2020  
 Принята к печати 14.02.2020

Received 01.11.2019  
 Revision received 13.02.2020  
 Accepted 14.02.2020

# СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ЭНТЕРОВИРУСНЫХ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ

А.В. Алимов<sup>1</sup>, Е.П. Игонина<sup>2</sup>, И.В. Фельдблюм<sup>3</sup>, В.И. Чалапа<sup>1</sup>, Ю.А. Захарова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия

<sup>3</sup> Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера МЗ РФ, г. Пермь, Россия

**Резюме.** В статье представлен обзор зарубежной научной литературы с описанием случаев энтеровирусных (неполио) инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Поиск публикаций проводили во «Всемирной базе данных о вспышках нозокомиальных инфекций» (Институт гигиены и экологической медицины в Университетском медицинском комплексе «Шарите», Германия) и в базе данных PubMed (Национальная медицинская библиотека, США) за период с 1936 по 2017 г. Найденные публикации содержали сведения о 28 внутрибольничных вспышках инфекций, вызванных Enterovirus A (EV-A71), B (эховирусы 11, 17, 18, 30, 31, 33, вирусы Коксаки A9, B2, B5), D (EV-D68). Обнаружено, что большинство нозокомиальных вспышек энтеровирусных (неполио) инфекций имело место в акушерских стационарах и отделениях для новорожденных. Источником возбудителя инфекции преимущественно явились матери заболевших детей. Описан случай, связанный с внутриутробным инфицированием. Показано, что вспышка может начаться с инфицированного ребенка, находившегося в инкубационном периоде. В единичных публикациях сообщалось о нозокомиальных вспышках в стационарах гериатрического профиля. Вспышки нозокомиальных энтеровирусных (неполио) инфекций, как правило, характеризовались полиморфизмом клинической картины заболевания в пределах одного серотипа возбудителя и одного очага инфекции. Летальные исходы регистрировали в небольшом количестве случаев. Среди установленных этиологических агентов преимущественно указаны вирусы вида Enterovirus B. В качестве факторов, способствовавших распространению инфекции в отделениях новорожденных, отмечены нарушения санитарно-противоэпидемического режима: выкладка использованных одноразовых подгузников на детскую кровать перед их утилизацией, использование общей ванны, игрушек и бытовых предметов, нарушение технологии гигиенической обработки рук медицинского персонала. Одной из мер по улучшению диагностики энтеровирусной (неполио) инфекции у новорожденных рекомендован вирусологический скрининг детей с подозрением на сепсис в случае неустановленной этиологии заболевания. Установлено, что этиологическая расшифровка внутрибольничных вспышек невозможна без специфической лабораторной диагностики, преимущественно методом гнездной ПЦР с обратной транскрипцией и методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей с последующим филогенетическим анализом.

**Ключевые слова:** энтеровирусная (неполио) инфекция, нозокомиальная инфекция, эпидемический очаг, энтеровирусы, Echovirus, Coxsackievirus.

## Адрес для переписки:

Захарова Юлия Александровна  
620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23,  
Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций.  
Тел.: 8 (343) 261-99-47, доб. 114.  
E-mail: z.y.alexandrovna@mail.ru

## Contacts:

Yulia A. Zakharova  
620030, Russian Federation, Yekaterinburg, Letnyaya str., 23,  
Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections.  
Phone: +7 (343) 261-99-47, ext. 114.  
E-mail: z.y.alexandrovna@mail.ru

## Библиографическое описание:

Алимов А.В., Игонина Е.П., Фельдблюм И.В., Чалапа В.И., Захарова Ю.А. Современное состояние проблемы энтеровирусных (неполио) инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 486–496. doi: 10.15789/2220-7619-CSF-1161

## Citation:

Alimov A.V., Igonina E.P., Feldblum I.V., Chalapa V.I., Zakharova Yu.A. Current status of healthcare-associated enteroviral (non-polio) infections // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 486–496. doi: 10.15789/2220-7619-CSF-1161

**CURRENT STATUS OF HEALTHCARE-ASSOCIATED ENTEROVIRAL (NON-POLIO) INFECTIONS**Alimov A.V.<sup>a</sup>, Igonina E.P.<sup>b</sup>, Feldblum I.V.<sup>c</sup>, Chalapa V.I.<sup>a</sup>, Zakharova Yu.A.<sup>a</sup><sup>a</sup> *Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Yekaterinburg, Russian Federation*<sup>b</sup> *Federal Service for Supervision on Consumer Rights and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation*<sup>c</sup> *Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation*

**Abstract.** Here we present the data on foreign research publications describing healthcare-associated enteroviral (non-polio) infections (HAI) sought in the Worldwide Database for Nosocomial Outbreaks (Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Universitätmedizincomplex “Charite”, Germany) as well as PubMed search engine (The United States National Library), covering 1936–2017 timeframe. The publications retrieved contained the data on 28 nosocomial outbreaks caused by Enterovirus A (EV-A71), B (Echoviruses 11, 17, 18, 30, 31, 33, Coxsackie viruses A9, B2, B5) and D (EV-D68). It was discovered that the majority of the nosocomial enteroviral (non-polio) outbreaks occurred in obstetric hospitals and neonatal units so that children were mainly maternally infected. In addition, a case associated with intrauterine infection was described. It was shown that outbreaks might be started by an infected child at the incubation period. Single publications reported nosocomial outbreaks in geriatric hospitals. Generally, nosocomial enteroviral (non-polio) outbreaks were characterized by polymorphic clinical picture caused by any certain pathogen serotype and within a single site of the infection. Few lethal outcomes were recorded. Enterovirus B species dominated among identified etiological agents. Violated hospital hygiene and infection control contributing to spread of infection were among those found in neonatal units: putting used diapers out on baby bed prior disposal, sharing bathtub, toys and household objects as well as poor hand hygiene in medical workers. One of the measures recommended to improve diagnostics of enteroviral (non-polio) infections was virology screening of children with suspected sepsis in case of unidentified etiology. It was established that etiological decoding of nosocomial outbreaks was impossible without applying pathogen-specific diagnostic tools, mainly nested RT-PCR and direct sequencing of followed by subsequent phylogenetic analysis.

**Key words:** *enteroviral (non-polio) infections, nosocomial infections, epidemic focus, enteroviruses, Echovirus, Coxsackievirus.*

Проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), многогранна, требует для решения усилий многих служб и специалистов различного профиля. Общие междисциплинарные подходы к их профилактике легли в основу Национальной концепции профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 6 ноября 2011 г.). На современном этапе развития медицинской науки, в связи с широким внедрением методов молекулярной генетики, существенно изменились представления об ИСМП, в этиологии которых наблюдается возрастание доли возбудителей вирусной природы, что в целом является отражением современной ситуации с инфекционной заболеваемостью. Наряду с общеизвестными возбудителями гемоконтактных инфекций (ВИЧ, парентеральные вирусные гепатиты) в научной литературе появляются материалы об ИСМП, обусловленных вирусами гриппа и парагриппа, аденовирусами, метапневмовирусами, ротавирусами, норовирусами и пр. К числу возбудителей ИСМП относятся и неполиомиелитные (неполио) энтеровирусы.

Активизация эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции (ЭВНИ) в последние годы отмечается во всех регионах мира, включая Россию, и не зависит от их со-

циально-экономического статуса. Значимость ЭВНИ определяется высокой интенсивностью эпидемического процесса, повсеместным распространением, высокой долей вспышечной заболеваемости, контагиозностью, полиморфизмом клинических форм и проявлений, многообразием и высокой изменчивостью возбудителя (более 100 серотипов), его широкой диссеминацией среди населения в силу высокой устойчивости во внешней среде, отсутствием средств специфической профилактики. Наличие большого количества источников возбудителя ЭВНИ, в том числе среди медицинского персонала, определяют высокий риск развития ИСМП энтеровирусной этиологии в медицинских организациях, и определяет актуальность проведения эффективных противоэпидемических и профилактических мероприятий, направленных на прерывание путей и факторов передачи.

В соответствии с действующей классификацией [14, 31] род *Enterovirus* входит в семейство *Picornaviridae* порядка *Picornavirales*, включает 12 видов энтеровирусов и 3 вида риновирусов. Энтеровирусы (неполио), выделенные от человека и не являющиеся риновирусами, относят к четырем видам: *Enterovirus A*, *Enterovirus B*, *Enterovirus C* и *Enterovirus D*. Эпидемиологическими критериями, подтверждающими нозокомиальный характер ЭВНИ

с групповой заболеваемостью среди госпитализированных пациентов (в некоторых случаях с двухфазным характером течения инфекционного процесса) являются: общность этиологического агента ЭВНИ у заболевших и бессимптомных вирусоносителей; наличие источников возбудителя инфекции среди медицинского персонала; факторы риска, связанные с пребыванием пациента в конкретном отделении стационара; вероятные пути и факторы передачи инфекции.

Поиск публикаций по теме настоящего обзора в зарубежной научной литературе дал относительно немногочисленные описания нозокомиальных вспышек ЭВНИ, информация о которых представлена фрагментарно по причине давности некоторых публикаций и (или) отсутствия свободного доступа к первоисточникам. Это затрудняло систематическое рассмотрение материала по эпидемиологическим критериям, поэтому в основу рассмотрения нозокомиальных ЭВНИ в данном обзоре положен этиологический принцип.

«Всемирная база данных о вспышках нозокомиальных инфекций» [30] в настоящее время содержит опубликованные сведения за период с 1936 по 2017 год о 3583 вспышках, вызванных 307 различными патогенными биологическими агентами. Ведение базы данных осуществляется Институтом гигиены и экологической медицины в Университетском медицинском комплексе «Шарите»\* в Берлине. С 2001 г. в базу вводится структурированная информация из публикаций о случаях нозокомиальных инфекций, что позволяет проводить анализ массива данных по различным поисковым запросам, в частности — по роду или виду микроорганизмов, вызвавших нозокомиальную инфекцию. На поисковый запрос «enterovirus» в этой базе данных была получена таблица публикаций по 10 вспышкам нозокомиальной энтеровирусной инфекции. Запрос «echovirus» выявил две дополнительные публикации (третья публикация касалась эховируса 23, который в настоящее время относится к другому роду — Parechovirus). Поисковый запрос «coxsackievirus» не выявил дополнительных литературных источников.

Таким образом, «Всемирная база данных о вспышках нозокомиальных инфекций» сохранила информацию о 12 вспышках нозокомиальной ЭВНИ, что составило 0,33% от всех публикаций, учтенных в этой базе на момент обращения.

Результатом поиска в базе данных PubMed Национальной медицинской библиотеки США по запросу «enterovirus nosocomial outbreak» было найдено 22 литературных источника, из кото-

рых 4 журнальные статьи содержали информацию о нозокомиальных вспышках ЭВНИ, отсутствовавшую в базе данных Медицинского комплекса «Шарите» (МК «Шарите»), 3 источника были найдены ранее в базе данных МК «Шарите», 8 публикаций являлись обзорами и 4 публикации не имели прямого отношения к теме запроса. По запросу «echovirus nosocomial outbreak» было найдено дополнительно 3 публикации и еще 3 источника найдено по контекстным ссылкам, не выявленным по предыдущему запросу, а также отсутствовавших в базе данных МК «Шарите». По запросу «coxsackievirus nosocomial outbreak» в PubMed был найден дополнительно 1 источник, не указанный в результатах предыдущих запросов. Таким образом, информация о публикациях, полученная в базе данных PubMed, совпадала с первичной информацией о вспышках нозокомиальных ЭВНИ в базе данных МК «Шарите» лишь по трем источникам. В целом по запросам в PubMed было найдено 14 зарубежных источников (3 из которых пересекалась с базой данных МК «Шарите»).

Результат поискового запроса в PubMed о нозокомиальных вспышках без уточнения этиологии («nosocomial outbreak») показал 3329 источников, что было сопоставимо с базой данных МК «Шарите», однако эффективность поиска в PubMed оказалась выше — 17 источников (0,51%) по сравнению с 12 источниками (0,33%) в базе МК «Шарите».

В целом количество найденных публикаций с первичными данными о нозокомиальных ЭВНИ указывало на относительно немногочисленность таковых и отсутствие значительного дублирования источников в двух крупных медицинских базах данных — PubMed и МК «Шарите».

В перечисленных медицинских базах были найдены по 3 ссылки на русскоязычные статьи с аннотациями на английском языке. В журнале «Вопросы вирусологии» приведены данные о групповой заболеваемости ЭВНИ на территории бывшего СССР. Так, в нескольких городах Сибири в период с 1980 по 1989 г. наблюдалось 5 эпидемических вспышек энтеровирусного увеита, с общей численностью заболевших более 750 человек (преимущественно дети), обусловленных тремя субтипами эховирусов человека: E-19K, E-11A и E-11/B [1, 2, 3]. Там же в период с 1988 по 1991 г. описано 3 вспышки мультисистемного заболевания с геморрагическим синдромом [20]. С определенной долей вероятности можно предположить, что часть лиц из этих очагов ЭВНИ могли иметь внутрибольничный характер инфицирования.

\* Institute for Hygiene and Environmental Medicine, Charité – University Medicine, Berlin.

Далее представлены результаты поиска по наиболее актуальным видам неполиомиелитных энтеровирусов.

### Энтеровирус 71 (EV-A71), вид Enterovirus A

Huang F.L. и соавт. (2010) [17] описали случаи групповой заболеваемости новорожденных, вызванные энтеровирусом EV-A71 в отделении новорожденных Тайваньского госпиталя, в период с 26.04.2005 г. по 07.05.2005 г. Эпидемическая вспышка имела однофазный характер. Источник инфекции не был установлен. Предположительно, первый выявленный заболевший пациент мог заразиться вирусом от взрослого члена своей семьи с бессимптомной формой инфекции. Распространение вируса в стационаре происходило от одного ребенка к другому в пределах одного очага инфекции. Ни у кого из обследованных штатных сотрудников отделения из материала ректальных мазков вирусологическим методом на культуре клеток не был выделен EV-A71. Тем не менее не была исключена возможность передачи инфекции через руки персонала и общую ванну для купания детей. Всего зарегистрировано 7 случаев клинически выраженного заболевания: у всех детей наблюдалась пониженная активность; у 6 — лихорадка; у 4 — симптомы энцефалита; у 4 — сонливость; у 3 — диарея; у 2 — язвенные поражения языка, десен или слизистой оболочки рта. Смертельных исходов не зарегистрировано. Вирус EV-A71 методом ПЦР с обратной транскрипцией был выделен из материала 2 назофарингеальных и 3 ректальных мазков. Анализ фрагментов генома EV-A71 методом секвенирования выявил 98,6–100% идентичность штаммов. Все заболевшие дети были обследованы как при подозрении на сепсис, включая развернутый общий анализ крови, биохимический профиль, С-реактивный белок (СРБ), анализ мочи, анализ крови на гемокультуру, вирусологические исследования (серологические тесты на энтеровирусы, выделение вирусов на культуре клеток из фекалий и мазков из глотки). При наличии неврологической симптоматики у детей был исследован ликвор. Проведены скрининговые вирусологические исследования образцов фекалий и ректальных мазков от медицинского персонала. В отделении усилены противоэпидемические мероприятия, касающиеся мытья рук; прекращен прием новых детей до выписки или перевода заболевших в другое отделение госпиталя по причине лихорадочного состояния; введены меры, предотвращающие попадание водопроводной воды в емкости для молока; усилены гигиенические мероприятия на кухне; внедре-

но использование отдельной ванны для купания каждого ребенка; введена утилизация персоналом одноразовых подгузников в заранее приоткрытые пластиковые пакеты вместо выкладки их на кровать перед сбросом в мусорный контейнер.

Результаты проведенных исследований позволили авторам статьи сделать вывод о возможности формирования нозокомиальных очагов ЭВНИ, вызванных энтеровирусом EV-A71, на эпидемически неблагополучной территории. Установлено, что этиологическая расшифровка таких вспышек невозможна без специфической лабораторной диагностики.

### Эховирус 7 (E-7), вид Enterovirus B

Daboval T. и соавт. (2006) [12] описали очаг групповой заболеваемости ЭВНИ, вызванной эховирусом 7, в блоке интенсивной терапии отделения новорожденных (7 пациентов) в течение 19-дневного периода осенью 2002 г. в Канаде. Клинически ЭВНИ проявлялась инфекционным заболеванием с полиорганной недостаточностью у 6 новорожденных детей и заболеванием верхних отделов дыхательных путей в форме ларингофарингита у 1 взрослой пациентки. Первой выявленной заболевшей оказалась 28-летняя мать, родившая ребенка после нормально протекавшей беременности и выписанная из госпиталя на следующий день после родов. В раннем послеродовом периоде (на третий день) у нее развилась клиническая картина ОРЗ. Было сделано предположение, что передача вируса произошла от матери ребенку, а затем — к другим детям в результате неадекватной обработки рук персоналом. Заболевшие дети были изолированы, усилены мероприятия по обработке рук, проведено вирусологическое исследование образцов биоматериалов от каждого пациента. Вирус E-7 выделен из фекалий 6 новорожденных. Авторы публикации сообщили о высоких уровнях СРБ среди заболевших эховирусной инфекцией. При отсутствии доказательств бактериальной природы заболевания, высокий уровень СРБ подтверждал наличие инфекции вирусной этиологии. Патологический процесс не сопровождался осложнениями и летальными исходами.

Takami T. и соавт. (1998) [28] описали очаг групповой заболеваемости ЭВНИ (4 пациента), вызванной эховирусом E-7, в блоке интенсивной терапии отделения новорожденных в период с июля по август 1996 г. в Японии. Все 4 случая ЭВНИ начинались с клинической картины гастроэнтерита. Летальных исходов не зарегистрировано. Этиологическая расшифровка ЭВНИ была выполнена методом гнездовой ПЦР с обратной транскрипцией и ме-

тодом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей. Суммарную вирусную РНК выделяли из образцов ликвора и сыворотки крови. После обратной транскрипции амплифицировали 5'-нетранслируемую область генома эховируса E-7 методом гнездовой ПЦР, затем секвенировали нуклеотидные последовательности в продукте ПЦР. Геном эховируса был обнаружен в сыворотке крови 4-х пациентов в остром периоде инфекции, в 1 образце ликвора и в сыворотке крови 2-х реконвалесцентов. Нуклеотидные последовательности, полученные из всех образцов, имели 100% уровень гомологии. Первый выявленный заболевший новорожденный заразился от своей матери в перинатальном периоде. Путь передачи инфекции точно не был установлен, предположительно, основная роль принадлежала медицинскому персоналу отделения.

Wilson C.W. и соавт. (1989) [29] описана нозокомиальная вспышка сочетанных инфекций в блоке интенсивной терапии отделения новорожденных в США с одновременной циркуляцией респираторно-синцитиального (РС) вируса и энтеровируса E-7. С января по июнь 1984 г. было выявлено 73 ребенка с РС-вирусной инфекцией, 20 детей с E-7-вирусной инфекцией и 6 детей с сочетанными формами РС и E-7. Несмотря на проводимые в отделении противоэпидемические мероприятия, новые заболевания продолжали выявляться в течение нескольких месяцев. Такой длительный характер вспышки связали: 1) со случаями ранее неизвестной циркуляции РС-вируса, что приводило к повторному заносу РС-инфекции в «чистые» зоны; 2) с отсутствием лабораторных экспресс-тестов для диагностики ЭВНИ; 3) с наличием детей с бессимптомной формой каждой инфекции; 4) с логистическими проблемами в результате сочетанных форм. Проблема усугублялась множественностью факторов передачи при переводе новорожденных в блок интенсивной терапии: длительная госпитализация, эндотрахеальная и назоглоточная интубация, контакт с многочисленным обслуживающим персоналом.

Cerny E. и соавт. (1983) [8] представили данные об эпидемиологических особенностях, клинических проявлениях и результатах лабораторного обследования пациентов с ЭВНИ, обусловленных вирусом E-7, в отделении неонатологии (Германия). После поступления в отделение первого заболевшего ребенка, заразившегося предположительно в перинатальном периоде, в одной палате было инфицировано еще 3 из 16 детей. Пятый ребенок был инфицирован в другом блоке, так как обслуживался медсестрами, осуществлявшими уход за группой «заболевших». Клинически ин-

фекционный процесс протекал с лихорадкой (5 случаев), гастроэнтеритом (5), неврологическими симптомами (4), остановкой дыхания и брадикардией (1), мелкой макулярной сыпью (1). В тот же период времени у 5 из 24 штатных сотрудников госпиталя был диагностирован гастроэнтерит с лихорадкой. Вирус E-7 выделяли из кала, мазков с задней стенки глотки, мочи, крови и ликвора. У всех заболевших детей в развернутом общем клиническом анализе крови единственным отклонением был нейтрофильный сдвиг лейкоцитарной формулы влево.

## Эховирус 11 (E-11), вид Enterovirus B

Chen J.H. и соавт. (2005) [10] изучили очаг групповой заболеваемости ЭВНИ среди новорожденных в акушерском стационаре, вызванной энтеровирусом E-11 в ноябре 2003 г. на Тайване. В детское отделение госпиталя были переведены 13 новорожденных с клиническими проявлениями инфекции и множественными очагами поражения. У всех был выделен энтеровирус E-11. Вирусологическими исследованиями дополнительно были охвачены 32 новорожденных из акушерского стационара. Из них 30 не имели симптомов инфекции, у 2 отмечена лихорадка (переведены в другой госпиталь). У 2-х детей с бессимптомным носительством из ректальных мазков был выделен E-11. Таким образом, общее количество инфицированных детей составило 15 человек. Один из 13 пациентов, переведенных в детское отделение, скончался через 6 дней в результате массивной кровопотери. У 3 членов семьи этого ребенка также был выделен E-11. Еще у 1 ребенка наблюдалось фульминантное течение инфекции с остаточным поражением печени. У остальных детей осложнений не наблюдалось. Индикация E-11 проводилась с помощью ПЦР с обратной транскрипцией, идентификация — методом прямого секвенирования. Нуклеотидные последовательности всех выделенных вирусных изолятов группировались на филограмме в отдельный кластер и имели идентичность более 97%. Установлено, что первый выявленный заболевший ребенок был заражен матерью при рождении. Передача вируса происходила, вероятнее всего, через руки медицинского персонала стационара. После перевода детей в другие медицинские учреждения или после выписки акушерский стационар прекратил прием пациенток. Отделение новорожденных было закрыто для проведения дезинфекции, внедрены усиленные процедуры мытья рук персонала и методы, предотвращающие передачу инфекции через использованные подгузники, проведен вирусологический скрининг

ректальных и фарингеальных мазков от персонала (24 человека) и от всех пациентов отделения, независимо от наличия клинических проявлений инфекции. Медицинский персонал (2 врача и 22 медсестры) также был обследован на присутствие специфических антител класса IgG к E-11, которые не были выявлены ни в одном случае. Эпидемиологическое расследование показало, что вспышка ЭВНИ в отделении новорожденных могла начаться с инфицированного ребенка, находившегося в инкубационном периоде.

Apisarnthanarak A. и соавт. (2005) [4] описали очаг групповой заболеваемости в отделении новорожденных госпиталя в Таиланде (12 случаев), вызванной энтеровирусом E-11 в марте 2005 г. У всех детей отмечались единые клинические проявления инфекции с симптомами ящуроподобного заболевания. В ходе расследования установлено, что новорожденные заразились от первого выявленного ребенка. Инфекция передавалась через общие игрушки и бытовые предметы. Проведено вирусологическое исследование фекалий 6 заболевших и 6 незаболевших детей. В 4 образцах от заболевших был выделен энтеровирус E-11. У штатных сотрудников представленного отделения вирус обнаружить не удалось. Отделение было закрыто на 2 недели для дезинфекции с последующим внедрением процедуры усиленной гигиенической обработки рук персонала и бытовых предметов.

Farcy C. и соавт. (2012) [15] приведены результаты эпидемиологического расследования двух связанных между собой случаев нозокомиальной инфекции, вызванной энтеровирусом E-11 в отделении новорожденных (Франция). В ходе эпидемиологического расследования широко использовались методы генотипирования и филогенетического анализа.

Вирус E-11 чаще других энтеровирусов человека упоминался в публикациях о нозокомиальных вспышках ЭВНИ в конце XX в. Так, в 1990 г. сообщалось [21] о вспышке серозного менингита, вызванного E-11, в отделении новорожденных в госпитале города Фукуи (Япония).

Rabkin C.S. и соавт. (1988) [24] описали 10 случаев групповой заболеваемости ЭВНИ, вызванной E-11, в период с 18.07.1986 г. по 05.08.1986 г. среди госпитализированных новорожденных в США, один из которых скончался. При этом 9 детей заразилось от одного первичного выявленного заболевшего, находясь с ним в отделении новорожденных как минимум в течение суток. Факторами риска распространения инфекции были низкая масса тела при рождении, недоношенность, назначение антибиотиков, трансфузии эритроцитарной массы, введение назогастрального зонда.

Steinmann J. и Albrecht K. (1985) [26] опубликовали данные о вспышке ЭВНИ, вызванной E-11 в городе Бремен (Германия) среди недоношенных детей в блоке интенсивной терапии отделения новорожденных (17 случаев за 3-недельный период). У 5 заболевших наблюдалась клиническая картина системной инфекции («септицемия») с менингитом, у 2 лихорадочное состояние сопровождалось приступами остановки дыхания и брадикардии. У 4 ведущими признаками инфекции были менингеальные симптомы, у 3 неврологические симптом сочетались с гастроэнтеритом. Летальных случаев не зарегистрировано. В 68,9% образцов (преимущественно в фекалиях) выделен энтеровирус E-11. С использованием вирусологических и серологических методов было установлено, что во время вспышки одна из матерей, ее старший ребенок и 3 сотрудника блока интенсивной терапии были инфицированы E-11.

Mertens T. и соавт. (1982) [23] опубликовали результаты расследования 7 случаев ЭВНИ, вызванной E-11, в родильном отделении госпиталя в Германии. Вспышка началась с летального исхода у новорожденного (на 8-й день жизни) с клиническими симптомами септицемии, после чего заболело еще 6 детей. Инфекция передавалась через руки медицинского персонала (медсестры, работавшие в палате с новорожденными). Дальнейшее распространение инфекции было предотвращено изоляцией заболевших детей и радикальными мерами по усилению санитарно-противоэпидемического режима.

Hasegawa A. (1975) [16] была описана вспышка нозокомиальной ЭВНИ среди новорожденных в родильном отделении госпиталя, вызванная E-11, в период с июля по сентябрь 1971 г. в Японии. 41 ребенок (из 188 находившихся в отделении) имели клиническую картину лихорадочного заболевания, сопровождавшегося стоматитом. Энтеровирус E-11 был выделен из образцов кала у 14 пациентов и из глоточных мазков — у 2. Антительный ответ на E-11 имели 19 обследованных детей. При этом максимальная вируснейтрализующая активность антител после их разделения в градиенте плотности сахарозы соответствовала антителам класса IgM с коэффициентом седиментации 19S. Нейтрализующая активность антител была более выраженной против штамма, вызвавшего вспышку, чем против прототипного штамма E-11 Gregory.

Cramblett H.G. и соавт. (1973) [11] была описана вспышка нозокомиальной ЭВНИ, вызванной E-11 у недоношенных детей и детей-инвалидов, в блоке интенсивной терапии госпиталя в США. В течение короткого периода времени заболело 4 ребенка, из нескольких образцов от них был выделен энтеровирус E-11. Трое

из четырех детей заболевали последовательно друг за другом в течение 24 часов, что предполагало наличие одного очага. Клинические проявления инфекции соответствовали сепсису и (или) менингиту. Источник инфекции не был идентифицирован. Наиболее вероятный путь передачи возбудителя связали с неправильной обработкой рук персоналом. После перевода заболевших детей в инфекционное отделение и закрытия блока интенсивной терапии на 7 дней, новых случаев заражения E-11 зарегистрировано не было.

### Эховирус 17 (E-17), вид Enterovirus B

Jankovic B. и соавт. (1999) [18] описали вспышку нозокомиальной инфекции E-17 у новорожденных в сентябре 1994 г. в акушерско-гинекологическом госпитале в Белграде (Югославия). Мать первого заболевшего ребенка не сообщила о клинических симптомах заболевания при своем поступлении в стационар. У ее ребенка на 5-й день после рождения появилась лихорадка и сыпь. Всего за период эпидемической вспышки заболело 8 детей и 3 сотрудника госпиталя, у 2 детей исход заболевания оказался летальным. Клиническими проявлениями инфекции были гастроэнтерит (5), септицемия (2), системная инфекция (2), менингит (1). Вирус E-17 был выделен из ректальных мазков и мазков с глотки от 8 детей и от матери первого заболевшего ребенка. При обследовании персонала отделения E-17 присутствовал в биологическом материале у 1 врача, 2 медсестер и 1 санитарки. Факторы передачи инфекции в публикации не указаны. Дети с бессимптомным носительством были выписаны домой, отделение временно закрыто на дезинфекцию.

### Эховирус 18 (E-18), вид Enterovirus B

Kusuhara K. и соавт. (2008) [19] опубликовали данные о вспышке нозокомиальной инфекции, вызванной вирусом E-18, в блоке интенсивной терапии отделения новорожденных в городе Фукуока (Япония) в период с ноября 2003 по февраль 2004 г. Источник инфекции установлен не был. Предполагалась возможность бессимптомного вирусоносительства у штатного сотрудника отделения или версия передачи вируса от родителей, посещавших детей. Всего зарегистрировано 20 случаев ЭВНИ без летальных исходов. Первый и второй выявленные случаи заболевания сопровождались ярко выраженной сыпью, оба пациента были изолированы в отдельные палаты, в отделении усилены санитарно-противоэпидемические мероприятия, введены ограничительные

меры для посещений, каждому посетителю выдавалась памятка о недопустимости входа в отделение при наличии повышенной температуры тела, сыпи, кишечного расстройства или респираторного заболевания. Отделение прекратило прием новых пациентов, проведено вирусологическое (на культуре клеток) и молекулярно-биологическое (методом ПЦР с обратной транскрипцией) обследование всех пациентов и сотрудников отделения, которое выявило широкую циркуляцию E-18 среди пациентов. В отделении внедрена специальная процедура утилизации одноразовых подгузников путем сброса в заранее приоткрытый пластиковый пакет, без выкладывания подгузника на кровать перед сбросом в мусорную корзину. Изоляция больных и усиление противоэпидемических мероприятий оказались эффективны для прекращения дальнейшего распространения энтеровируса.

### Эховирус 30 (E-30), вид Enterovirus B

В работах Chambon M. и соавт. (1999) [9] и Bailly J.L. и соавт. (2000) [5] была описана нозокомиальная вспышка ЭВНИ в отделении новорожденных в городе Клермон-Ферран (Франция). В период с февраля по август 1997 г. там было госпитализировано 53 человека с энтеровирусным менингитом, все, за исключением одного пациента, были детьми. У 70% заболевших идентифицирован энтеровирус E-30. Вспышка закончилась 8 августа 1997 г., однако, через 2 месяца в отделение новорожденных был госпитализирован ребенок с менингитом, вызванным E-30, инфицированный предположительно от матери в родах. Через 20 дней в отделении новорожденных была зарегистрирована групповая заболеваемость ЭВНИ, вызванная E-30. В эпидемический процесс были вовлечены 5 новорожденных. Клиническими проявлениями ЭВНИ были менингит (2) и лихорадка (2). В 1 случае наблюдалось бессимптомное носительство. В реакции нейтрализации выделенного штамма E-30 образцами сыворотки крови от матерей заболевших детей было установлено, что ни один из 5 заболевших новорожденных не имел пассивного иммунитета к E-30 за счет трансплацентарно передающихся материнских антител. Быстрая этиологическая расшифровка ЭВНИ с использованием ПЦР с обратной транскрипцией позволила немедленно начать противоэпидемические мероприятия и предотвратить дальнейшее распространение инфекции. Обследование детей в отделении новорожденных и в детских отделениях после локализации вспышки не выявило дальнейшего распространения вируса. Филогенетический анализ нуклеотидных по-

следовательностей в области белка VP1 штаммов E-30, выделенных от 5 новорожденных, показал, что вирусные изоляты формировали монофилетический кластер с близкородственным штаммом E-30, выделенным в период эпидемии энтеровирусного менингита в июне 1997 г.

Таким образом, авторы статьи представили весомые доказательства того, что нозокомиальные вспышки ЭВНИ могут возникать спустя значительное время после окончания эпидемии в общей популяции.

### Эховирус 31 (E-31), вид Enterovirus B

McDonald LL и соавт. (1971) [22] описали вспышку нозокомиальной ЭВНИ, вызванную E-31, в блоке интенсивной терапии отделения новорожденных, летом 1968 г. в США. Вирус E-31 был выделен от 4 детей. Первый заболевший ребенок госпитализирован в больницу в коматозном состоянии, в последующем скончался. E-31 у него был выделен прижизненно из глоточного мазка. В ходе патологоанатомического вскрытия в тканях ЦНС вирус определить не удалось. В этот же период времени у 2 детей, находившихся в отделении, появились приступы остановки дыхания. У них E-31 был выделен из ликвора, глоточных мазков и фекалий. Вирус также определяли в фекалиях новорожденного без признаков инфекции.

### Эховирус 33 (E-33), вид Enterovirus B

Sato K. и соавт. (1998) [25] описали вспышку ЭВНИ, вызванную E-33, в родильном доме в Японии в 1994 г. Заболевание зарегистрировано у 9 детей с клиническими проявлениями инфекции в форме менингита (5), септицемии (3) и системной инфекции с синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания (1). У одного ребенка в последующем констатировали летальный исход. У всех детей в сыворотке крови наблюдалось нарастание титра антител к E-33. Вирус был выделен из фекалий и (или) из ликвора у 7 обследованных. Для оценки коллективного иммунитета на наличие антител к E-33 проведен анализ образцов сыворотки крови от лиц разных возрастных групп (от 7 до 65 лет) до вспышки (649 проб), и после вспышки (344 проб). В целом доля положительных находок составила 12,0% и увеличивалась с возрастом. Достоверно значимых различий между группами в целом не выявлено. Серопозитивных лиц в возрастной группе от 16 до 30 лет оказалось всего 5,6%, что свидетельствовало о возможном дефиците пассивного иммунитета к E-33 у новорожденных.

### Вирус Коксаки A9 (CV-A9), вид Enterovirus B

Eisenhut M. и соавт. (2000) [13] описали вспышку нозокомиальной инфекции, обусловленной вирусом CV-A9, в отделении новорожденных в Великобритании. Инфицированными оказались 4 ребенка с одним летальным исходом. Клиническими проявлениями инфекции были менингит (1), гастроэнтерит (1) и гепатит (1). В назофарингеальных мазках у 4 и в фекалиях у 2 больных детей методом гнездовой ПЦР с обратной транскрипцией была обнаружена вирусная РНК. Первый выявленный заболевший новорожденный, у которого на 5-й день жизни появились желтуха, вялость и отказ от питания, родился доношенным, здоровым ребенком. Исследование ликвора выявило у него признаки менингита. Все дети с выделенным вирусом были изолированы в отдельные палаты и находились в медицинском учреждении до получения двух отрицательных результатов вирусологического и молекулярно-генетического анализа. В биологическом материале (мазки с глотки) от врачебного и среднего медицинского персонала CV-A9 выявлен не был. С профилактической целью всем детям, находившимся в отделении новорожденных в период выявления случаев ЭВНИ, был назначен нормальный человеческий иммуноглобулин.

### Вирус Коксаки B2 (CV-B2), вид Enterovirus B

Syriopoulou V.P. и соавт. (2002) [27] описали вспышку нозокомиальной инфекции в отделении новорожденных, обусловленную вирусом CV-B2, в период с 7 по 22 июля 1999 г. в Греции. Всего заболело 20 новорожденных (18 — с подтвержденным диагнозом и 2 — с подозрением на ЭВНИ), показатель пораженности (кумулятивной инцидентности) составил 33%. Занос вируса CV-B2 произошел при визите в госпиталь родного брата одного из новорожденных. 10 июля у одной из медсестер отделения появились симптомы гастроэнтерита, поэтому она могла стать вторичным источником ЭВНИ. Инкубационный период во время вспышки в среднем составил 4,2 дня (от 3 до 6 дней). Соотношение мужчин к женщинам было определено как 11:9, средний возраст заболевших на момент начала клинических проявлений составил 5,5 дней. У всех детей, вовлеченных в эпидемический процесс, наблюдались лихорадка, снижение массы тела, макулопапулезная сыпь, у 6 из них развились симптомы гастроэнтерита, у 11 — серозный менингит.

Время пребывания детей в стационаре составило от 3 до 7 дней, все были выписаны из госпиталя без осложнений. РНК CV-B2 была выявлена в 18 образцах мочи и в 14 образцах ликвора. Для определения факторов риска, ассоциированных с эпидемической вспышкой, проведено исследование «случай-контроль». Значимым фактором риска определено пребывание детей в палате для новорожденных (отношение шансов составило 33,35; 95% доверительный интервал 3,79–800;  $P = 0,00002$ ). Связи заболевания с другими возможными факторами не выявлено. Адекватные противоэпидемические мероприятия привели к прекращению распространения ЭВНИ в родильном доме. В данном исследовании продемонстрирована способность энтеровирусов быстро распространяться среди новорожденных. Установлено значение метода ПЦР для постановки этиологического диагноза и оценки эффективности своевременных противоэпидемических мероприятий.

### Вирус Коксаки B5 (CV-B5), вид Enterovirus B

Brightman V.J. и соавт. (1966) [7] описали нозокомиальную вспышку ЭВНИ среди новорожденных в родильном доме, вызванную вирусом CV-B5, в 1966 г. в Филадельфии (США). В эпидемический процесс (от бессимптомного носительства до серозного менингита) были вовлечены дети. При этом у доношенных детей наблюдались легкие формы инфекции, в то время как у недоношенных — выраженная и более тяжелая клиническая картина заболевания. Среди заболевших ни в одном случае не был выявлен миокардит — типичный симптом для вирусов Коксаки В. Первые случаи заболевания были связаны с внутриутробным заражением. У большинства обследованных детей наблюдалась сероконверсия с появлением нейтрализующих антител к выделенному штамму CV-B5, однако у некоторых недоношенных детей фиксирующие комплемент антитела (класса IgG) не работали.

### Энтеровирус D68 (EV-D68), вид Enterovirus D

Val A. и соавт. (2015) [6] описали вспышку нозокомиальной ЭВНИ, вызванной EV-D68 в 2014 г. среди пожилых людей с болезнью Альцгеймера из специализированного отделения в доме престарелых в пригороде Лиона

(Франция). Средний возраст пациентов составил 89 лет (от 79 лет до 101 года). 20 октября 2014 г. у 4 пациентов появились симптомы респираторной инфекции: кашель и ринорея без лихорадки. На следующий день аналогичные симптомы развились еще у 3 пациентов, еще через день у 1 пациента начался кашель. Расчетный средний инкубационный период заболевания составлял 1,9 сут. В отделении были проведены мероприятия по предотвращению воздушно-капельной передачи инфекции, что повлияло на локализацию очага. Все клинические случаи заболевания закончились без осложнений. Для установления этиологии заболевания образцы назальных мазков методом ПЦР были исследованы на вирусы гриппа А и В, РС-вирус, метапневмовирус человека, аденовирусы от А до F, коронавирусы 229E и OC43, боксавирус, вирусы парагриппа 1–4 типа, и мультиплексно — на энтеровирусы и риновирусы. Образцы от двух пациентов дали положительный результат на энтеровирусы и риновирусы. Дальнейшая расшифровка результатов этих положительных проб (на EV-D68), выполненных в Национальном референсном центре энтеровирусов методом секвенирования генома EV-D68 установила их 100% идентичность по фрагменту VP1. Филогенетический анализ выявил близкое родство выделенных нуклеотидных последовательностей к циркулирующим EV-D68 во Франции и в США.

Таким образом, обзор данных зарубежной научной литературы позволил сделать вывод, что большинство случаев нозокомиальных вспышек ЭВНИ имеют место среди детей в отделениях для новорожденных. Вспышки нозокомиальных ЭВНИ, как правило, характеризуются полиморфизмом клинической картины заболевания в пределах одного серотипа возбудителя и одного очага инфекции. Среди установленных этиологических агентов в наибольшем количестве публикаций присутствовали вирусы вида Enterovirus B. В качестве факторов, способствовавших распространению ЭВНИ в отделениях новорожденных, указывались нарушения санитарно-противоэпидемического режима: выкладка использованных одноразовых подгузников на детскую кровать перед их утилизацией, использование общей ванны, игрушек и бытовых предметов, качество обработки рук медицинского персонала. Одной из мер по улучшению диагностики ЭВНИ у новорожденных рекомендован вирусологический скрининг детей с подозрением на сепсис в случае неустановленной этиологии заболевания.

## Список литературы/References

1. Королева Г.А., Гульман Л.А., Лашкевич В.А., Лукашенко З.С., Шибанова Л.К. Вирус ЕСНО 11 — возбудитель третьей вспышки увеита у детей в г. Красноярске (1986) // Вопросы вирусологии. 1986. Т. 34, № 1. С. 55–65. [Koroleva G.A., Gul'man L.A., Lashkevich V.A., Lukashenko Z.S., Shibanova L.K. ECHO-11 virus, the pathogen of the third outbreak of uveitis in children in Krasnoyarsk, 1986. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, Russian Journal, 1989, vol. 34, no. 1, pp. 55–65. (In Russ.)*]
2. Лашкевич В.А., Королева А.Г., Лукашев А.Н., Денисова Е.В., Катаргина Л.А., Хорошилова-Маслова Л.П. Острый энтеровирусный увеит у детей раннего возраста // Вопросы вирусологии. 2005. Т. 50, № 3. С. 36–45. [Lashkevich V.A., Koroleva G.A., Lukashch A.N., Denisova E.V., Katargina L.A., Khoroshilova-Maslova I.P. Acute enterovirus uveitis in infants. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, Russian Journal, 2005, vol. 50, no. 3, pp. 36–45. (In Russ.)*]
3. Лашкевич В.А., Уманская С.В., Королева Г.А., Змейкова Т.Г., Базыль В.А., Катаргина Л.А., Архангельская Е.И., Хорошилова-Маслова Л.П., Скубенко С.Ф. Вспышка энтеровирусного увеита у детей в Омске в 1987–1988 гг // Вопросы вирусологии. 1990. Т. 35, № 1. С. 33–38. [Lashkevich V.A., Umanskaia S.V., Koroleva G.A., Zmeikova T.G., Bazyl' V.A., Katargina L.A., Arkhangel'skaia E.I., Khoroshilova-Maslova I.P., Skubenko S.F. Outbreak of enteroviral uveitis in children in Omsk in 1987–1988. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, Russian Journal, 1990, vol. 35, no. 1, pp. 33–38. (In Russ.)*]
4. Apisarnthanarak A., Kitphati R., Pongsuwan Y., Tacharoenueng R., Mundy L.M. Echovirus type 11: outbreak of hand-foot-and-mouth disease in a Thai hospital nursery. *Clin. Infect. Dis., 2005, vol. 41, no. 9, pp. 1361–1362. doi: 10.1086/497076*
5. Bailly J.L., Béguet A., Chambon M., Henquell C., Peigue-Lafeuille H. Nosocomial transmission of echovirus 30: molecular evidence by phylogenetic analysis of the VP1 encoding sequence. *J. Clin. Microbiol., 2000, vol. 38, no. 8, pp. 2889–2892.*
6. Bal A., Schuffenecker I., Casalegno J.S., Josset L., Valette M., Armand N., Dhondt P.B., Escuret V., Lina B. Enterovirus D68 nosocomial outbreak in elderly people, France, 2014. *Clin. Microbiol. Infect., 2015, vol. 21, no. 8: e61–e62. doi: 10.1016/j.cmi.2015.05.008*
7. Brightman V.J., Scott T.F., Westphal M., Boggs T.R. An outbreak of coxsackie B-5 virus infection in a newborn nursery. *J. Pediatr., 1966, vol. 69, no. 2, pp. 179–192.*
8. Cerny E., Kind C., Bächli T. Nosocomial epidemic of echovirus type 7 in a neonatology department. *Helv. Paediatr. Acta., 1983, vol. 38, no. 5–6, pp. 457–465. (In German).*
9. Chambon M., Bailly J.L., Béguet A., Henquell C., Archimbaud C., Gaulme J., Labbé A., Malpuech G., Peigue-Lafeuille H. An outbreak due to echovirus type 30 in a neonatal unit in France in 1997: usefulness of PCR diagnosis. *J. Hosp. Infect., 1999, vol. 43, no. 1, pp. 63–68.*
10. Chen J.H., Chiu N.C., Chang J.H., Huang F.Y., Wu K.B., Lin T.L. A neonatal echovirus 11 outbreak in an obstetric clinic. *J. Microbiol. Immunol. Infect., 2005, vol. 38, no. 5, pp. 332–337.*
11. Cramblett H.G., Haynes R.E., Azimi P.H., Hilty M.D., Wilder M.H. Nosocomial infection with Echovirus type 11 in handicapped and premature infants. *Pediatrics, 1973, vol. 51, no. 4, pp. 603–607.*
12. Daboval T., Ferretti E., Duperval R. High C-reactive protein levels during a benign neonatal outbreak of echovirus type 7. *Am. J. Perinatol., 2006, vol. 23, no. 5, pp. 299–304. doi: 10.1055/s-2006-947157*
13. Eisenhut M., Algawi B., Wreghitt T., Foweraker J., McKee T., Miles R., Challener J. Fatal Coxsackie A9 virus infection during an outbreak in a neonatal unit. *J. Infect., 2000, vol. 40, no. 3, pp. 297–298. doi: 10.1053/jinf.2000.0650*
14. Enterovirus. URL: <http://www.picornaviridae.com/enterovirus/enterovirus.htm> (30.05.2018)
15. Farcy C., Mirand A., Marque Juillet S., Henquell C., Neulier C., Foucaud P., Peigue-Lafeuille H. Enterovirus nosocomial infections in a neonatal care unit: from diagnosis to evidence, from a clinical observation of a central nervous system infection. *Arch. Pediatr., 2012, vol. 19, no. 9, pp. 921–926. doi: 10.1016/j.arcped.2012.06.015*
16. Hasegawa A. Virologic and serologic studies on an outbreak of echovirus type 11 infection in a hospital maternity unit. *Jpn. J. Med. Sci. Biol., 1975, vol. 28, no. 3, pp. 179–188.*
17. Huang F.L., Chen C.H., Huang S.K., Chen P.Y. An outbreak of enterovirus 71 in a nursery. *Scand. J. Infect. Dis., 2010, vol. 42, no. 8, pp. 609–612. doi: 10.3109/00365541003754444*
18. Jankovic B., Pasic S., Kanjuh B., Bukumirovic K., Cvetanovic G., Todorovic N., Djuricic S. Severe neonatal echovirus 17 infection during a nursery outbreak. *Pediatr. Infect. Dis. J., 1999, vol. 18, no. 4, pp. 393–394.*
19. Kusuhara K., Saito M., Sasaki Y., Hikino S., Taguchi T., Suita S., Hayashi J., Wakatsuki K., Hara T. An echovirus type 18 outbreak in a neonatal intensive care unit. *Eur. J. Pediatr., 2008, vol. 167, no. 5, pp. 587–589. doi: 10.1007/s00431-007-0516-x*
20. Lukashch A.N., Lashkevich V.A., Koroleva G.A., Ilonen J., Karganova G.G., Reznik V.I., Hinkkanen A.E. Molecular epidemiology of enteroviruses causing uveitis and multisystem hemorrhagic disease of infants. *Virology, 2003, vol. 307, no. 1, pp. 45–53.*
21. Matsumoto K., Kobayashi T., Kimura Y. Isolation and preliminary characterization of antigenic variant of echovirus type 11. *J. Med. Virol., 1990, vol. 31, no. 4, pp. 253–258.*
22. McDonald L.L., Geme J.W. Jr., Arnold B.H. Nosocomial infection with ECHO virus type 31 in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics, 1971, vol. 47, no. 6, pp. 995–999.*
23. Mertens T., Hager H., Eggers H.J. Epidemiology of an outbreak in a maternity unit of infections with an antigenic variant of Echovirus 11. *J. Med. Virol., 1982, vol. 9, no. 2, pp. 81–91.*
24. Rabkin C.S., Telzak E.E., Ho M.S., Goldstein J., Bolton Y., Pallansch M., Anderson L., Kilchevsky E., Solomon S., Martone W.J. Outbreak of echovirus 11 infection in hospitalized neonates. *Pediatr. Infect. Dis. J., 1988, vol. 7, no. 3, pp. 186–190.*
25. Sato K., Yamashita T., Sakae K., Suzuki Y., Ishikawa N., Nishimura Y. A newborn baby outbreak of echovirus type 33 infection. *J. Infect., 1998, vol. 37, no. 2, pp. 123–126. doi: 10.1016/S0163-4453(98)80165-5*
26. Steinmann J., Albrecht K. Echovirus 11 outbreak among premature newborn infants in a neonatal intensive care unit. *Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. A, 1985, vol. 259, no. 2, pp. 284–293. [In German].*

27. Syriopoulou V.P., Hadjichristodoulou Ch., Daikos G.L., Pirounaki M., Chatzicou V., Pavlopoulou I., Anagnostakou M., Theodoridou M., Dellagrammaticas H. Clinical and epidemiological aspects of an enterovirus outbreak in a neonatal unit. *J. Hosp. Infect.*, 2002, vol. 51, no. 4, pp. 275–280. doi: 10.1053/jhin.2002.1253
28. Takami T., Kawashima H., Takei Y., Miyajima T., Mori T., Nakayama T., Takekuma K., Hoshika A. Usefulness of nested PCR and sequence analysis in a nosocomial outbreak of neonatal enterovirus infection. *J. Clin. Virol.*, 1998, vol. 11, no. 1, pp. 67–75. doi: 10.1016/S0928-0197(98)00022-1
29. Wilson C.W., Stevenson D.K., Arvin A.M. A concurrent epidemic of respiratory syncytial virus and echovirus 7 infections in an intensive care nursery. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1989, vol. 8, no. 1, pp. 24–29.
30. Worldwide Database for Nosocomial Outbreaks. URL: <https://www.outbreak-database.com/About.aspx> (27.05.2018)
31. Zell R., Delwart E., Gorbalenya A.E., Hovi T., King A.M.Q., Knowles N.J., Lindberg A.M., Pallansch M.A., Palmenberg A.C., Reuter G., Simmonds P., Skern T., Stanway G., Yamashita T., Ictv Report Consortium. ICTV virus taxonomy profile: Picornaviridae. *J. Gen. Virol.*, 2017, vol. 98, no. 10, pp. 2421–2422. doi: 10.1099/jgv.0.000911

**Авторы:**

**Алимов А.В.**, к.м.н., директор ФБУН Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Россия;

**Игонина Е.П.**, к.м.н., зам. начальника отдела организации надзора за инфекционными и паразитарными болезнями Управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;

**Фельдблюм И.В.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера МЗ РФ, г. Пермь, Россия;

**Чалапа В.И.**, научный сотрудник научно-методического отдела ФБУН Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Россия;

**Захарова Ю.А.**, д.м.н., доцент, главный научный сотрудник, руководитель отдела эпидемиологии вирусных инфекций ФБУН Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Россия.

**Authors:**

**Alimov A.V.**, PhD (Medicine), Director of Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Yekaterinburg, Russian Federation;

**Igonina E.P.**, PhD (Medicine), Deputy Head of Department for Surveillance on Infectious and Parasitic Diseases, Administration of Epidemiological Surveillance, Federal Service for Supervision on Consumer Rights and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;

**Feldblum I.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Epidemiology Department of Continuing Professional Education Faculty with a Course in Hygiene and Epidemiology, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation;

**Chalapa V.I.**, Researcher, Research Methodology Department, Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Yekaterinburg, Russian Federation;

**Zakharova Yu.A.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Lead Researcher, Head of the Department for Epidemiology of Viral Infections, Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Yekaterinburg, Russian Federation.

# MOLECULAR TYPING OF *RICKETTSIA AKARI*

M.E. Ereemeeva<sup>a</sup>, M.M. Sturgeon<sup>b</sup>, J.K. Willard<sup>b</sup>, S.E. Karpathy<sup>b</sup>, A. Madan<sup>c</sup>,  
G.A. Dasch<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Jiann-Ping Hsu College of Public Health, Georgia Southern University, Statesboro, GA, USA

<sup>b</sup> Rickettsial Zoonoses Branch, Division of Vector-Borne Diseases, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, USA

<sup>c</sup> Covance Genomics Laboratory, Redmond, WA, USA

**Abstract.** *Rickettsia akari*, an obligately intracellular bacterium, is the causative agent of the cosmopolitan urban disease rickettsialpox. *R. akari* is an atypical representative of spotted fever group rickettsiae (SFG) as it is associated with rodent mites rather than ticks or fleas; however, only limited information is available about the degree of genetic variability found among isolates of *R. akari*. We examined 13 isolates of *R. akari* from humans, rodents and mites in the USA, the former Soviet Union, and the former Yugoslavia made between 1946 and 2003 for diversity in their tandem repeat regions (TR) and intergenic regions (IGR). The 1.23 Mb genome of *R. akari* strain Hartford CWPP was analyzed using Tandem Repeat Finder software (<http://tandem.bu.edu>) and 374 different TRs were identified, with size variation from 1 to 483 bp and with TR copy numbers ranging between 21 and 1.9, respectively. No size polymorphisms were detected among the 11 TR regions examined from 5 open reading frames and 6 IGR. Eighteen non-TR IGR's were amplified and sequenced for the same isolates comprising a total of 5.995 bp (0.49%) of the Hartford CWPP strain chromosome. Three single nucleotide polymorphism (SNP) sites were detected in two IGR's which permitted separation of the five *R. akari* isolates from Ukraine SSR from the other eight isolates. In conclusion, this is the first study reporting genetic heterogeneity among *R. akari* isolates of different geographic origins. Further exploration of this genetic diversity is needed to understand better the geographic distribution of *R. akari* and the epidemiology of rickettsialpox. The potential of mites as hosts for other rickettsial agents also needs further investigation.

**Key words:** rickettsialpox, mite, *Liponyssoides sanguineus*, *Rickettsia akari*, rickettsiae, spotted fever group rickettsiae, tandem repeats, intergenic regions, genotyping, multilocus sequence typing.

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТИПИРОВАНИЕ *RICKETTSIA AKARI*

Еремеева М.Е.<sup>1</sup>, Стуржеон М.М.<sup>2</sup>, Уиллард Д.К.<sup>2</sup>, Карпати С.Е.<sup>2</sup>, Мадан А.<sup>3</sup>, Даш Г.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Колледж народного здравоохранения им. Цзянн-Пин Хсу, Университет Южной Джорджии, Стейтсборо, Джорджия, США

<sup>2</sup> Центр Контроля и Профилактики Заболеваний, Атланта, Джорджия, США

<sup>3</sup> Кованс Геномик лаборатория, Редмонд, Вашингтон, США

**Резюме.** *Rickettsia akari* является облигатной внутриклеточной бактерией и вызывает осповидный риккетсиоз. *Rickettsia akari* является атипичным представителем группы риккетсиозных пятнистых лихорадок (SFG), поскольку она циркулирует в гамазовых клещах; однако в отношении степени генетического разнообразия изолятов *R. akari* имеются лишь ограниченные данные. Мы изучили 13 изолятов *R. akari*, выделенных от человека, грызунов и клещей в США, странах бывшего СССР и бывшей Югославии за период с 1946 по 2003 г. на предмет разнообразия в составе tandemных повторов (TR) и межгенных районов (IGR).

---

### Адрес для переписки:

Еремеева Марина Евгеньевна  
30458, США, Джорджия, Стейтсборо, почтовый ящик 8015,  
Университет Южной Джорджии.  
Тел.: +1 912 478-05-04. Факс: +1 912 478-58-11.  
E-mail: meremeeva@georgiasouthern.edu

### Contacts:

Marina E. Ereemeeva  
Georgia Southern University PO Box 8015, Statesboro, GA 30458, USA.  
Phone: +1 912 478-05-04. Fax: +1 912 478-58-11.  
E-mail: meremeeva@georgiasouthern.edu

---

### Библиографическое описание:

Еремеева М.Е., Стуржеон М.М., Уиллард Д.К., Карпати С.Е., Мадан А., Даш Г.А. Генетическое типирование *Rickettsia akari* // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 497–505. doi: 10.15789/2220-7619-MTO-1295

### Citation:

Ereemeeva M.E., Sturgeon M.M., Willard J.K., Karpathy S.E., Madan A., Dasch G.A. Molecular typing of *Rickettsia akari* // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 497–505. doi: 10.15789/2220-7619-MTO-1295

При помощи программы Tandem Repeat Finder software (<http://tandem.bu.edu>) по поиску tandemных повторов Tandem Repeat Finder (<http://tandem.bu.edu>) был проанализирован геном длиной 1,23 Мб штамма *R. akari* Hartford CWPP; обнаружены 374 различных TR размером от 1 до 483 п.н. и количестве копий TR колеблющихся от 21 до 1,9 соответственно. Среди 11 TR из 5 открытых рамок считывания и 6 IGR не обнаружено размерного полиморфизма. Восемнадцать не-TR IGR были амплифицированы и секвенированы из всех изолятов, составляющих в целом 5995 п.н. (0,49%) хромосомы штамма Hartford CWPP. Три точечные мутации (SNP) были обнаружены в двух IGR, что позволило отделить пять изолятов *R. akari* из Украинской ССР от восьми других изолятов. В заключение следует отметить, что настоящее исследование является первым описанием генетического разнообразия среди изолятов *R. akari* из различных географических регионов. Дальнейшее изучение генетического разнообразия необходимо для более точного понимания географического распространения *R. akari* и эпидемиологии осповидного риккетсиоза. Оценка потенциала гамазовых клещей в качестве хозяев для возбудителей других риккетсиозов также требует дополнительных исследований.

**Ключевые слова:** осповидный риккетсиоз, гамазовые клещи, *Liponyssoides sanguineus*, *Rickettsia akari*, риккетсиу, генотипирование, tandemные повторы, межгенные фрагменты, мультилокусное генотипирование.

## Introduction

*Rickettsia akari* is an obligate intracellular gram-negative bacterium which causes rickettsialpox in humans [2, 21]. The etiological agent is thought to have a worldwide distribution [31]. *R. akari* circulates in natural reservoirs of rats and house mice, *Mus musculus*, and is transmitted to humans by the bite of the mouse mite, *Liponyssoides sanguineus* [2, 22]. The transmission typically occurs in situations associated with disturbances of peridomestic structures infested by the rodents, rodent-infested and crowded conditions, or when the rodent population is reduced substantially or eliminated by rodent control or illnesses [1, 26, 31, 44]. Rickettsialpox is one of the few rickettsioses which is characterized as an urban disease. Clinically, it manifests as a mild disease accompanied by the classic triad of the eschar lesion at a site of the mite bite, fever, and vesicular rash, as well as headache and lymphadenopathy and leukopenia [2, 3, 21, 31].

At the time of its discovery, large scale outbreaks of rickettsialpox were identified in the United States and Ukraine SSR of the former Soviet Union (hereafter Ukraine) [2, 3, 21], and for the subsequent decade rickettsialpox received substantial attention from the public health and medical communities [31]. Serological surveys determined the prevalence of *R. akari* infections in several European, Central American and African countries [31]; however, disease reporting quickly diminished after that and only sporadic reports appeared in the peer-reviewed literature [31, 35]. Rickettsialpox received renewed attention at the beginning of the 21<sup>st</sup> century due to the need for differential diagnostic assessment for cutaneous lesions since its vesicular rash and later scab could lead to misidentification as chickenpox, herpes, and/or anthrax [5, 25, 31, 33, 46]. More recently clinically and laboratory confirmed cases of rickettsialpox have been reported from the USA, Ukraine, the former Yugoslavia (Croatia), Turkey, Netherlands and Mexico [29, 31, 35, 38, 46].

*Rickettsia akari* strains which were isolated from patients, mice, rats and mites from areas in the USA and Ukraine exhibit identical features when compared with classical identification methods, by using restriction fragment polymorphism analysis of the *gltA* and *ompB* amplicons, and with whole genome restriction profiles using pulsed-field gel electrophoresis [11, 12]. A Croatian isolate from the former Yugoslavia also could not be distinguished from reference USA *R. akari* strains using serological methods and monoclonal antibody typing [35], and similar conclusions were derived for *R. akari* responsible for rickettsialpox in Turkey [29] and Mexico but the latter samples were not typed [46]. These observations suggest that a single ancestral strain of *R. akari* was widely disseminated around the globe with rodents and their mites. The purpose of this study was to perform deeper genetic analysis of the available *R. akari* isolates from various geographic locations; we compared their variability in some of the tandem repeat sites and intergenic regions that could be identified from the complete genome sequence of *R. akari* Hartford CWPP strain (NCBI accession # NC\_009881).

## Materials and Methods

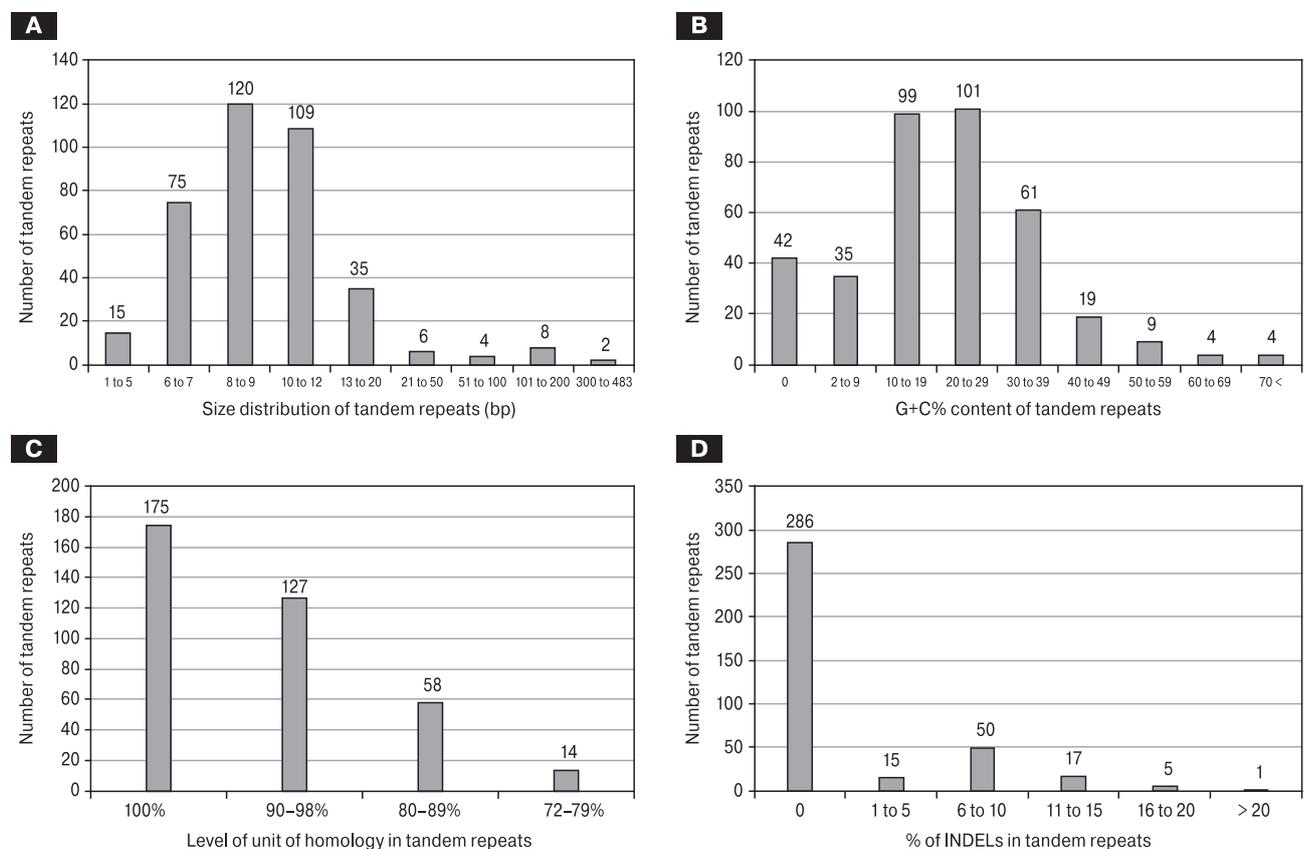
***R. akari* isolates and DNA extraction.** Fourteen stocks of strains of *R. akari* that were isolated from humans, rodents and mites in the USA, the former Soviet Union, and former Yugoslavia between 1946 and 2003 were analyzed. The five Ukrainian strains were from the Reference Collection of the Gamaleya Research Institute of Epidemiology in Moscow. The isolates from the U.S. consisted of the Kaplan (MK) reference strain isolated in 1946 from a patient in New York City, five isolates from patients in various locations in New York during 2001 to 2003 [32], and two stocks of Hartford strain: CWPP (plaque-purified by Charles Wisseman, Jr., from the University of Maryland School of Medicine) and an earlier unpurified passage Hartford H5564 (from the Harvard

University School of Public Health Collection) which was isolated from house mouse mites collected in West Hartford, Connecticut in 1952 (J. Spielman personal communication and [15]). The *R. akari* Croatian strain was isolated from a human from Yugoslavia in 1991 [35], and was obtained from David H. Walker (University of Texas Medical Branch, Galveston, TX). All strains were propagated in embryonated chicken eggs and passaged in Vero E6 cells and their whole cell DNAs (Vero cell DNA and *Rickettsia* DNA) were extracted using QIAamp protocol according to the manufacturer's instructions (Qiagen, Valencia, CA). Extracted DNAs were stored at +4°C before analysis.

**Tandem repeat site identification and analysis.** The 1.23 Mb genome of *R. akari* strain Hartford CWPP (NCBI accession # NC\_009881) obtained from DNA from Vero cell propagated and Renografin purified rickettsiae at the CDC was analyzed for the presence and distribution of tandem repeats using Tandem Repeat (TR) Finder software version 3.21 with advanced parameters setting (<http://tandem.bu.edu>) [4]. The predicted tandem repeat sites were catalogued according to their size and their individual characteristics (fig. 1). Primers were designed for selected TR sites containing identical repeats with a period size of 6 to 17 nucleotides (tabl. 1) whose

variable periodicity would be distinguishable by agarose gel electrophoresis. All amplifications were conducted using Taq polymerase (Qiagen, Valencia, CA) and 20 pmol of each forward and reverse primer, and cycling conditions consisted of 40 cycles of 1 min at 95°C, 30 sec at 50°C, and 1 min at 68°C. Resulting amplicons were analyzed by electrophoresis in 1% agarose gels in 0.5X Tris-Borate-EDTA buffer (pH 8.0) for 30 min at 80 V and stained with ethidium bromide.

**Analysis of intergenic regions.** To identify intergenic region (IGR) spacers that might exhibit variable sequences in different isolates, homologous sequences of pairs of adjacent genes and their IGR were aligned for *R. akari* Hartford CWPP and *R. rickettsii* Sheila Smith (NCBI accession number NC\_009882). Of these, 18 of 28 sites evaluated were selected for further analysis based on the level of intraspecies variations found in *R. rickettsii*, *R. prowazekii* and *R. conorii* [17, 23, 49]. The primers used to amplify each IGR and predicted sizes for each amplicon are listed in table 2. All amplifications were conducted using Taq polymerase (Qiagen) according to the PCR protocol described previously [23]. Resulting amplicons from different isolates were analyzed for size variability by electrophoresis in the same 1% agarose gels run for 30 min at 80 V as described above.



**Figure 1. Properties of tandem repeat regions identified in *R. akari* Hartford CWPP**

A) Size distribution of tandem repeats; B) G+C% content of tandem repeats; C) Level of unit homology in tandem repeats; D) % of INDEL in tandem repeats

**Sequencing and sequence analysis.** Amplicons were purified using the Wizard SV gel and PCR clean-up system (Promega, Madison, WI). Purified PCR fragments were sequenced in both directions using a BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) according to the manufacturer's directions, using an ABI 3100 genetic analyzer (Applied Biosystems). Sequencing reads were assembled using the SeqMerge program of the GCG software package (Accelrys, San Diego, CA). Identity of each sequence was confirmed using BLAST and sequence comparisons were done using the ClustalW alignment program as formulated in MEGA3 [27]. New sequences generated as a part of this study were submitted to the NCBI GenBank under the following accession numbers: MN524593-MN524601.

## Results

**Analysis of the *R. akari* Hartford CWPP tandem repeat regions.** The characteristics of the tandem repeats (TR) present in the *R. akari* Hartford CWPP genome are summarized in Figure 1. The TR analysis identified 374 different loci containing tandem repeats, with repeat size variation from 1 to 483 bp and with copy numbers ranging between 1.9 and 21. Eleven selected primer pairs produced a single band of the predicted size when using DNA of Hartford CWPP strain (tabl. 1). Homologous amplicon frag-

ments were obtained for each *R. akari* isolate DNA available; the yield of PCR amplicons for each TR region was comparable for each set of primers thus permitting direct comparisons of their sizes. No electrophoretic polymorphisms were detected among the 11 TR regions examined with a repeat motif of 6 bp to 17 bp; these regions were amplified from 5 open reading frames and 6 intergenic regions.

**Analysis of the intergenic regions.** Of the twenty-one sets of IGR primers tested, 18 sets clearly amplified fragments of IGRs as expected with Hartford CWPP DNA; these were located in all regions of the chromosome of *R. akari* Hartford CWPP (tabl. 2). There was no overlap between TR identified in IGR of the *R. akari* genome (tabl. 1) and the IGR sites tested in this portion of the study. The eighteen pairs all amplified a single fragment of the same size from the genomic DNAs for each of the 14 isolate DNA tested. Lack of detectable differences in electrophoretic mobility suggested that INDELS > 6 bp were not present among the homologous fragments analyzed. Indeed, when sequenced, 16 of 18 amplicons had identical nucleotide sequences for all 14 DNAs to the genome sequence of Hartford CWPP isolate. Only two IGRs contained single nucleotide polymorphisms (SNP): one SNP was found within the *lig-tgt* IGR amplicon, and two SNPs were identified within the *tRNA<sup>Leu</sup>-mgtE* IGR amplicon (tabl. 2). Thus, the tested IGR genome regions are highly conserved among the available isolates of *R. akari*.

**Table 1. Tandem repeat sites and primers used to analysis these regions**

Target site and its location	Primer (5'-3')	Amplicon size (bp) based on the reference genome	Repeat motif in the reference genome	Size (number) of repeats in the reference genome
AKTR 27720–27727 (C)*	F: AAATCGTACGGCTAGTACAA R: CTAATCTCTTTCCGATGCTT	225	TTAAAAAAT	9 bp (2)
AKTR 63635–63650 (C)	F: TCTGAATCACTCACCGGTTT R: ACGGGTTTTTCAGGACTTAAT	242	GATTTGAT	8 bp (2)
AKTR 109301–109324 (C)	F: AGCTAATTCCGCATCTT R: AGTTTATTGCGATAGTCAAGG	296	GGTGGC	6 bp (4)
AKTR 117808–117823 (IGR)	F: GCCCTCTCCAATATCAGAT R: TTACGAAGTTTCTGCCATAGC	227	ATTTTTGT	8 bp (2)
AKTR 150931–150964 (IGR)	F: GCTATGGCTCCGGGTAGAAT R: TTACGCTGTGAATCCGGTGAA	846	ATCGTCATTGCAAGCAG	17 bp (2)
AKTR 204937–204954 (IGR)	F: GAAGTCCTGTGGTTCCGATT R: TATAGGCTTAGCGGTCTAC	239	TAAATCATC	9 bp (2)
AKTR 239619–239634 (IGR)	F: CCCAGGGCAGAAGTATCATT R: AATAAGTATTGCGTATGGCTT	278	CATAATTT	8 bp (2)
AKTR 261657–261672 (C)	F: AAATAGTTGGGAAGTTAATGA R: AATATGGCAATGCTTACC	328	GCTATATT	8 bp (2)
AKTR 288108–288135 (IGR)	F: TTAGGTGGTACGGCAGA R: CTTATCGCAGCGTATTACGTC	421	TCATAAGAAATAAA	14 bp (2)
AKTR 347653–347670 (C)	F: AAGCGGCTGATGATATTG R: TTTAGTGCCGTTTCTTCGATA	775	CAATATAAA	9 bp (2)
AKTR 417521–417540 (IGR)	F: ACAACGCCGATTATATCAA R: GCAACTGCCGAATATCAACC	185	AATAATAGCA	10 bp (2)

\*C, coding sequence, IGR, intergenic regions

The IGR *lig-tgt* SNP at nucleotide 369 is shared among all the USA isolates and the isolate from Croatia but is different from the homologous nucleotide in all five of the isolates from the Ukraine (tbl. 2). The USA and Croatian isolates have a C|T substitution as compared with the Ukrainian isolates. The annotation of the *R. akari* Hartford CWPP genome contains two small open reading frames on the reverse strand of the 458-bp *lig-tgt* intergenic region, one of 195 nt encoding a 65-aa hypothetical protein and another of 228-nt encoding a 75-aa protein which belongs to a family of toxin-antitoxin proteins. The C|T substitution results in a corresponding methionine-to-valine change in the amino acid sequence of the latter protein. The *tRNA<sup>Leu</sup>-mgtE* IGR, contained two SNPs at nucleotides 173 and 215 of the amplicon. These SNPs could also be linked with the same two groups of geographic locations found

in the *lig-tgt* region: the Croatian and all the USA isolates have a G|A substitution at nucleotide 173 and an A|T substitution at nucleotide 215 when compared to the Ukrainian isolates.

## Discussion

The most recent classifications based on conserved genetic attributes places *R. akari* into a so-called transitional group that also includes flea-borne *Rickettsia felis* and related organisms, *Rickettsia australis*, and *Rickettsia hoogstraalii* [19]. Genetic analysis of *R. akari* isolates of various geographic origins conducted in this study revealed a substantial level of genome conservation in the 0.5% of the genome we sampled by sequencing IGR regions that vary significantly from homologous regions in other SFGR. This suggests that a single ancestral strain

**Table 2. Primers used to analyze intergenic regions\***

Target region	Primers (5'-3')	Size ( <i>R. akari</i> )	Size ( <i>R. rickettsii</i> )
SpoOJ-abcT1	F: AAAGATTTGGAAGAATTAGACTTGAT R: TTTGCTTAAACCAACCATTTC	227 bp	272 bp
RC1137-tlc5	F: CGGGATAACGCCGAGTAATA R: ATGCCGCTCTGAATTTGTTT	377 bp	316 bp
Pal-RC1201	F: TGCAAGCACACATAATGCAA R: TCAAAATCGATTCTCTTTTCC	253 bp	247 bp
RC1027-XthA2	F: GGTATGTAAATGAGCCTTATCAACT R: TCAGTAGTATAAGTAGCTCCTGCTGTC	151 bp	135 bp
<i>nusG-rpIK</i>	F: CAGTTGCAATATTGGTAAAGCA R: CAGCAGCTGGAATTATCAAGTT	289 bp	344 bp
<i>dskA-xerC</i>	F: TCCCATAGGTAATTTAGGTGTTTC R: TACTACCGCATATCCAATTAATA	108 bp	177 bp
<i>cspA-tRNA<sup>Leu</sup></i>	F: CGCCATTGCTCTGTTCAATA R: TCCGTTATGTCTACCATTCCA	460 bp	459 bp
PCNB3	F: AATTCGGCTTTCTCACA R: CTTGGCGTTTGCTTGGTCT	255 bp	255 bp
<i>rpoB-rpoC</i>	F: CAGGCATTCTGAATCATT R: TCCGTAATAATTTACTACGCTCA	385 bp	324 bp
23S-5S rRNA	F: ACCACCACGTTGATAGGTC R: GGGATCGTGTGTTTCACTCA	345 bp	351 bp
<i>yqiX-gatB</i>	F: CTGCGGCAGTACCGACTATT R: ATCCGACGCTTGTAATCAG	305 bp	358 bp
<i>rne-CoxW</i>	F: CGGAAAAGAATGCAGAGTCTTG R: CCATTTTGAATTAACCTTTTCTGC	121 bp	241 bp
RC0241-0242	F: AGCTCAAATTGTGGTGTTC R: GGGATCCCTATTACAGCAAAA	349 bp	394 bp
<i>dnaN-RC0584</i>	F: TCGTCATGCCTGTTAAGGTG R: TTGGATAATCACCCGCTAAGA	351 bp	417 bp
RC0102-0103	F: GCGATAAGCGATTTATTAGGC R: GAAAGCCTAAAGCCTCCACA	359 bp	344 bp
<i>lig-tgt</i>	F: TTTTGTGCTTCTCTTCAGAT R: CCAAAATCTCATGAGCCGTA	524 bp	395 bp
<i>tmk-ProP4</i>	F: TTCCCCTCCCCTCAAATGTAA R: CGGAGCAAGAAACCCATAAA	361 bp	359 bp
<i>tRNA<sup>Leu</sup>-mgtE</i>	F: AGCATTGAGGGTGCTGTTCT R: TTCAGCAAATGATCGTGATG	452 bp	342 bp

\*Primer designation and their sequences are defined according to previously published information [16].

**Table 3. Origin of *R. akari* isolates and position of SNPs in intergenic regions**

Isolate	Geographic origin	Year	Source	lig-tgt (nt 377 of amplicon)*	tRNA <sup>Leu</sup> -mgtE (nt 193 of amplicon)*	tRNA <sup>Leu</sup> -mgtE (nt 235 of amplicon)*
Hartford CWPP	USA	1952	Mouse mite	C	G	A
Hartford H5564	USA	1952	Mouse mite	C	G	A
Kaplan	USA	1946	Human	C	G	A
Columbia1	USA	2001	Human	C	G	A
Columbia2	USA	2002	Human	C	G	A
Columbia3	USA	2002	Human	C	G	A
Bronx	USA	2002	Human	C	G	A
Manhattan	USA	2003	Human	C	G	A
Croatian	Yugoslavia	1991	Human	C	G	A
As4	Ukraine	1950	Mite	T	A	T
Aschkalunin	Ukraine	1950	Human	T	A	T
M3	Ukraine	1950	Mouse	T	A	T
R1	Ukraine	1950	Rat	T	ND	ND
Toger	Ukraine	1950	Human	T	A	T

\*Nucleotide position of the sequenced portion of the amplicon is indicated.

of *R. akari* has spread globally with their rodent and rodent mite hosts. We found three stable SNPs that permitted identification of two geographic variant types of *R. akari*. These findings underscore the need for further research and evaluation of this neglected species of pathogenic *Rickettsia*. Known examples with diversity of *R. bellii* organisms and an expanding list of near relatives of *R. felis* [6, 18, 25, 28, 48] suggest our sampling of relatives of *R. akari* and possibly other variants of *R. akari* may be far from complete.

In clinical diagnostic practice molecular tools typically target well characterized and conserved portions of the genomes, particularly coding sequences, which enable accurate and reliable detection of specific pathogens including epidemiological circumstances when infection due to *R. akari* is suspected [10]. Our study augments the number of regions which can be used for identification of *R. akari*.

Previous studies demonstrated that diversity in the number of variable tandem repeats (VNTR), and occurrence and distributions of insertion and deletions (INDEL) permit reliable identification of different species and even isolates of *Rickettsia* [13, 14, 41, 42, 45]. Several VNTR loci were informative to distinguish geographic variants of *R. rickettsii* and confirming that *R. rickettsii* circulating in Arizona consists of unique genetic lineage [13, 14, 45]. VNTR typing targeting locus Rc-65, (in *dksA-xerC* intergenic region) was used for accurate and rapid differentiation between the Portuguese *R. conorii* Malish-like and Israeli tick typhus strains circulating in the same geographic locales [41], and this typing system was applied directly to ticks and clinical samples [42]. Further examination of other TR sites may find useful variable tandem repeat loci in *R. akari*. This low technology approach does not require DNA sequencing.

Intergenic spacer region analysis has permitted investigators to examine strain diversity among

and within various species of *Rickettsia* including *R. prowazekii*, *R. conorii*, *R. sibirica*, and *R. rickettsii* [7, 16, 23, 47, 49]. This approach can be applied to both laboratory grown isolated strains and to field and clinical samples [7, 39] and even to fixed pathology specimens [30]. Furthermore, multispace intergenic typing based on three regions, the *dksA-xerC*, *mppA-purC*, and *rpmE-tRNA<sup>Met</sup>* spacer sequences, identified 61 genotypes among *Rickettsia* species, allowing the differentiation of each species by at least one distinct genotype [17]. In our study, no variations were detected within *dksA-xerC* fragment sequenced for 14 isolates of *R. akari*; however, we detected three SNPs in two other intergenic regions, namely *ligA-tgt* and *tRNA<sup>Leu</sup>-mgtE* spacers.

Because of current views regarding the low impact and low morbidity of rickettsialpox, the specific mechanisms underlying pathogenesis of *R. akari* infection are not well examined and not fully understood beyond just a few fragmentary findings implicating the roles of macrophages and TLR2 and TLR4 receptors in those interactions [34, 43]. In this study, we detected for the first time SNP-level diversity among geographically separated isolates of *R. akari*. One mutation we identified is responsible for a change in the amino acid sequence of a small peptide belonging to the antitoxin of a toxin-antitoxin stability system and specifically to a family of bacterial proteins which prevents the death of the host cells. Since at this point this toxin-antitoxin system is only partially characterized in rickettsiae [40], whether this mutations affects the pathogenicity of *R. akari* and the mechanisms and outcomes of their interactions with endothelial cells and macrophages is unknown. This is specifically important because recent reports of rickettsialpox from Mexico indicate unusual morbidity and severe clinical manifestations of the infection in pediatric and adult patients [46]. Our data sug-

gests that only limited genetic diversity exists among isolates of *R. akari* associated with previous outbreaks but only a small portion of the genome has been sampled. Consequently, one useful step would be to evaluate the genome sequence of a representative strain from Ukraine and to compare its properties to the prototype US strains that have received more study. Another benefit of such analysis would be to identify additional genetic markers permitting more discriminating surveillance, tracking and studying of the vector and the host associations of these isolates.

Molecular surveys of various collections of ectoparasites besides *L. sanguineus* should be performed to determine the existence of mite-associated rickettsiae and their related organisms. Korean and Chinese reports have indicated that other mites may be infected with *R. akari* or *R. akari*-like organisms [8, 9, 20]. Reeves et al. also found other rickettsial agents in mites from the USA and Egypt [36, 37]. If associations of *R. akari* and its near relatives can be established with other ectoparasites, it will be impor-

tant to determine if there are other wildlife reservoirs for *R. akari* or closely-related pathogens, and if disturbances in these interactions can cause rickettsial-pox-like illnesses in other ecological settings.

## Acknowledgements

This study was supported in part by the NIH grant AI05326-03.

This research was supported in part by an appointment of M. Sturgeon to the Emerging Infectious Diseases (EID) Fellowship Program administered by the Association of Public Health Laboratories (APHL) and funded by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

The findings and conclusions in this article are those of the authors and do not necessarily represent the views of the Centers for Disease Control and Prevention.

We thank the many investigators who contributed stocks of the isolates used in this investigation.

## Список литературы/References

1. Киселев Р.И., Волчанецкая Г.И. Сплошная дератизация и дезинсекция как метод борьбы с заболеваемостью оспоподобным риккетсиозом // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1954. № 12. С. 28–33. [Kiselev R.I., Voltchanetskaya G.I. Complete elimination of rats and mites as the means of prevention of vesicular rickettsiosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii* = *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1954, no. 12, pp. 28–33. (In Russ.)]
2. Киселев Р.И., Жданов В.М., Александрова Н.Н. К клинико-эпидемиологической характеристике оспоподобного риккетсиоза // Сб. тр. Харьковского НИИ вакцин и сывороток имени Мечникова. 1954. Т. XX. С. 253–257. [Kiselev R.I., Zhdanov V.M., Alexandrova N.N. Clinical and epidemiological characteristics of vesicular rickettsiosis. *Sbornik trudov Khar'kovskogo NII vaksyn i syvorotok imeni Mechnikova* = *Annals of Kharkov Mechnikov Research Institute*, 1954, vol. XX, pp. 253–257. (In Russ.)]
3. Кулагин С.М. К характеристике эндемических риккетсиозов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1952. Т. 12. С. 3–10. [Kulagin S.M. Characteristics of endemic rickettsiosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii* = *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1952, no. 12, pp. 3–10. (In Russ.)]
4. Benson G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Res.*, 1999, vol. 27, no. 2, pp. 573–580. doi: 10.1093/nar/27.2.573
5. Brouqui P., Parola P., Fournier P.E., Raoult D. Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2007, vol. 49, no. 1, pp. 2–12. doi: 10.1111/j.1574-695X.2006.00138.x
6. Brown L.D., Macaluso K.R. Rickettsia felis, an emerging flea-borne rickettsiosis. *Curr. Trop. Med. Rep.*, 2016, vol. 3, pp. 27–39. doi: 10.1007/s40475-016-0070-6
7. Cheng X., Jin Y., Lao S., Huang C., Huang F., Jia P., Zhang L. Multispacer typing (MST) of spotted fever group rickettsiae isolated from humans and rats in Chengmai County, Hainan Province, China. *Trop. Med. Int. Health.*, 2014, vol. 42, no. 3, pp. 107–114. doi: 10.2149/tmh.2014-03
8. Choi Y.J., Lee E.M., Park J.M., Lee K.M., Han S.H., Kim J.K., Lee S.H., Song H.J., Choi M.S., Kim I.S., Park K.H., Jang W.J. Molecular detection of various rickettsiae in mites (Acari: Trombiculidae) in southern Jeolla Province, Korea. *Microbiol. Immunol.*, 2007, vol. 51, no. 3, pp. 307–312. doi: 10.1111/j.1348-0421.2007.tb03912.x
9. Choi Y.J., Lee S.H., Park K.H., Koh Y.S., Lee K.H., Baik H.S., Choi M.S., Kim I.S., Jang W.J. Evaluation of PCR-based assay for diagnosis of spotted fever group rickettsiosis in human serum samples. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2005, vol. 12, no. 6, pp. 759–763. doi: 10.1128/CDLI.12.6.759-763.2005
10. Denison A.M., Amin B.D., Nicholson W.L., Paddock C.D. Detection of Rickettsia rickettsii, Rickettsia parkeri, and Rickettsia akari in skin biopsy specimens using a multiplex real-time polymerase chain reaction assay. *Clin. Infect. Dis.*, 2014, vol. 59, no. 5, pp. 635–642. doi: 10.1093/cid/ciu358
11. Ereemeeva M., Balayeva N., Ignatovich V., Raoult D. Genomic study of Rickettsia akari by pulsed-field gel electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.*, 1995, vol. 33, no. 11, pp. 3022–3024.
12. Ereemeeva M.E., Balayeva N.M., Ignatovich V.F., Raoult D. Proteinic and genomic identification of spotted fever group rickettsiae isolated in the former USSR. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, vol. 31, no. 10, pp. 2625–2633.
13. Ereemeeva M.E., Bosserman E., Zambrano M., Demma L., Dasch G.A. Molecular typing of novel Rickettsia rickettsii isolates from Arizona. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2006, vol. 1078, pp. 573–577. doi: 10.1196/annals.1374.114
14. Ereemeeva M.E., Dasch G.A. Closing the gaps between genotype and phenotype in Rickettsia rickettsii. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2009, vol. 1166, pp. 12–26. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04526.x

15. Eustis E.B., Fuller H.S. Rickettsialpox. II. Recovery of Rickettsia akari from mites Allodermanyssus sanguineus, from West Hartford, Conn. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine*, 1952, vol. 80, no. 3, pp. 546–549. doi: 10.3181/00379727-80-19685
16. Fournier P.E., Raoult D. Identification of rickettsial isolates at the species level using multi-spacer typing. *BMC Microbiol.*, 2007, vol. 7, no. 7. doi: 10.1186/1471-2180-7-72
17. Fournier P.E., Zhu Y., Ogata H., Raoult D. Use of highly variable intergenic spacer sequences for multispacer typing of Rickettsia conorii strains. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, vol. 42, no. 12, pp. 5757–5766. doi: 10.1128/JCM.42.12.5757-5766.2004
18. Frati F., Negri I., Fanciulli P.P., Pellicchia M., Dallai R. Ultrastructural and molecular identification of a new Rickettsia endosymbiont in the springtail Onychiurus sinensis (Hexapoda, Collembola). *J. Invertebr. Pathol.*, 2006, vol. 93, no. 3, pp. 150–156. doi: 10.1016/j.jip.2006.07.002
19. Gillespie J.J., Williams K., Shukla M., Snyder E.E., Nordberg E.K., Ceraul S.M., Dharmanolla C., Rainey D., Soneja J., Shallom J.M., Vishnubhat N.D., Wattam R., Purkayastha, A., Czar M., Crasta O., Setubal J.C., Azad A.F., Sobral B.S. Rickettsia phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. *PLoS One*, 2008, vol. 3, no. 4: e2018. doi: 10.1371/journal.pone.0002018
20. Huang Y., Zhao L., Zhang Z., Liu M., Xue Z., Ma D., Sun X., Sun Y., Zhou C., Qin X., Zhu Y., Li W., Yu H., Yu X.J. Detection of a novel Rickettsia from Leptotrombidium scutellare mites (Acari: Trombiculidae) from Shandong of China. *J. Med. Entomol.*, 2017, vol. 54, no. 3, pp. 544–549. doi: 10.1093/jme/tjw234
21. Huebner R.J., Peggy S., Armstrong C. 1946b. Rickettsialpox: A newly recognized rickettsial disease: I. Isolation of the etiological agent. *Public Health Rep.*, 1946, vol. 61, no. 45, pp. 1605–1614.
22. Huebner R.J., Jellison W.L., Armstrong C. Rickettsialpox: A newly recognized rickettsial disease: V. Recovery of Rickettsia akari from a house mouse (Mus musculus). *Public Health Rep.*, 1947, vol. 62, no. 22, pp. 777–780.
23. Karpathy S.E., Dasch G.A., Ereemeeva M.E. Molecular typing of isolates of Rickettsia rickettsii by use of DNA sequencing of variable intergenic regions. *J. Clin. Microbiol.*, 2007, vol. 45, no. 8, pp. 2545–2553. doi: 10.1128/JCM.00367-07
24. Kass E.M., Szaniawski W.K., Levy H., Leach J., Srinivasan K., Rives C. Rickettsialpox in a New York City hospital, 1980 to 1989. *N. Engl. J. Med.*, 1994, vol. 331, no. 24, pp. 1612–1617. doi: 10.1056/NEJM199412153312403
25. Krawczak F.S., Labruna M.B., Hecht J.A., Paddock C.D., Karpathy S.E. Genotypic characterization of Rickettsia bellii reveals distinct lineages in the United States and South America. *Biomed Res. Int.*, 2018, 8505483. doi: 10.1155/2018/8505483
26. Krinsky W.L. Does epizootic lymphocytic choriomeningitis prime the pump for epidemic rickettsialpox? *Rev. Infect. Dis.*, 1983, vol. 5, no. 6, pp. 1118–1119. doi: 10.1093/clinids/5.6.1118
27. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinform.*, 2004, vol. 5, no. 2, pp. 150–163. doi: 10.1093/bib/5.2.150
28. Maina A.N., Jiang J., Luce-Fedrow A., St John H.K., Farris C.M., Richards A.L. Worldwide presence and features of flea-borne Rickettsia asembonensis. *Front. Vet. Sci.*, 2019, vol. 5, p. 334. doi: 10.3389/fvets.2018.00334
29. Ozturk M.K., Gunes T., Kose M., Coker C., Radulovic S. Rickettsialpox in Turkey. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003, vol. 9, no. 11, pp. 1498–1499. doi: 10.3201/eid0911.030224
30. Paddock C.D., Denison A.M., Lash R.R., Liu L., Bollweg B.C., Dahlgren F.S., Kanamura C.T., Angerami R.N., Pereira dos Santos F.C., Brasil Martines R., Karpathy S. Phylogeography of Rickettsia rickettsii genotypes associated with fatal Rocky Mountain spotted fever. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2014, vol. 91, no. 3, pp. 589–597. doi: 10.4269/ajtmh.14-0146
31. Paddock C.D., Ereemeeva M.E. Rickettsialpox. In: Rickettsial Diseases. Eds. Parola P., Raoult D. *CRC Press*, 2007, pp. 63–86.
32. Paddock C.D., Koss T., Ereemeeva M.E., Dasch G.A., Zaki S.R., Sumner J.W. Isolation of Rickettsia akari from eschars of patients with rickettsialpox. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2006, vol. 75, no. 4, pp. 732–738.
33. Paddock C.D., Zaki S.R., Koss T., Singleton J., Jr., Sumner J.W., Comer J.A., Ereemeeva M.E., Dasch G.A., Cherry B., Childs J.E. Rickettsialpox in New York City: a persistent urban zoonosis. *Annals of New York Academy of Sciences*, 2003, vol. 990, pp. 36–44. doi: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07334.x
34. Quevedo-Diaz M.A., Song C., Xiong Y., Chen H., Wahl L.M., Radulovic S., Medvedev A.E. Involvement of TLR2 and TLR4 in cell responses to Rickettsia akari. *J. Leukoc. Biol.*, 2010, vol. 88, no. 4, pp. 675–685. doi: 10.1189/jlb.1009674
35. Radulovic S., Feng H.M., Morovic M., Djelalija B., Popov V., Crocquet-Valdes P., Walker D.H. Isolation of Rickettsia akari from a patient in a region where Mediterranean spotted fever is endemic. *Clin. Infect. Dis.*, 1996, vol. 22, no. 2, pp. 216–220. doi: 10.1093/clinids/22.2.216
36. Reeves W.K., Dowling A.P., Dasch G.A. Rickettsial agents from parasitic dermanyssosidea (Acari: Mesostigmata). *Exp. Appl. Acarol.*, 2006, vol. 38, no. 2–3, pp. 181–188. doi: 10.1007/s10493-006-0007-1
37. Reeves W.K., Loftis A.D., Szumlas D.E., Abbassy M.M., Helmy I.M., Hanafi H.A., Dasch G.A. Rickettsial pathogens in the tropical rat mite Ornithonyssus bacoti (Acari: Macronyssidae) from Egyptian rats (Rattus spp.). *Exp. Appl. Acarol.*, 2007, vol. 41, no. 1–2, pp. 101–107. doi: 10.1007/s10493-006-9040-3
38. Renvoise A., van't Wout J.W., van der Schroeff J.G., Beersma M.F., Raoult D. A case of rickettsialpox in Northern Europe. *Int. J. Infect. Dis.*, 2012, vol. 16, no. 3, pp. E221–E222. doi: 10.1016/j.ijid.2011.11.009
39. Shapiro M.R., Fritz C.L., Tait K., Paddock C.D., Nicholson W.L., Abramowicz K.F., Karpathy S.E., Dasch G.A., Sumner J.W., Adem P.V., Scott J.J., Padgett K.A., Zaki S.R., Ereemeeva M.E. Rickettsia 364D: a newly recognized cause of eschar-associated illness in California. *Clin. Infect. Dis.*, 2010, vol. 50, no. 4, pp. 541–548. doi: 10.1086/649926
40. Socolovschi C., Audoly G., Raoult D. Connection of toxin-antitoxin modules to inoculation eschar and arthropod vertical transmission in Rickettsiales. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2013, vol. 36, no. 2, pp. 199–209. doi: 10.1016/j.cimid.2013.01.001
41. Vitorino L., de Sousa R., Bacellar F., Ze-Ze L. Characterization of a tandem repeat polymorphism in Rickettsia strains. *J. Med. Microbiol.*, 2005, vol. 54, pt. 9, pp. 833–841. doi: 10.1099/jmm.0.45956-0
42. Vitorino L., de Sousa R., Bacellar F., Ze-Ze L. Automated method based in VNTR analysis for Rickettsiae genotyping. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2006, vol. 1078, pp. 582–586. doi: 10.1196/annals.1374.116

43. Walker D.H., Hudnall S.D., Szaniawski W.K., Feng H.M. Monoclonal antibody-based immunohistochemical diagnosis of rickettsialpox: the macrophage is the principal target. *Mod. Pathol.*, 1999, vol. 12, no. 5, pp. 529–533.
44. Watson J. New building, old parasite: Mesostigmatid mites — an ever-present threat to barrier facilities. *ILAR J.*, 2008, vol. 49, no. 3, pp. 303–309. doi: 10.1093/ilar.49.3.303
45. Wikswo M.E., Hu R., Metzger M.E., Eremeeva M.E. Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from California. *J. Med. Entomol.*, 2007, vol. 44, no. 1, pp. 158–162. doi: 10.1603/0022-2585(2007)44[158:dorr-ab2.0.co;2
46. Zavala-Castro J.E., Zavala-Velázquez J.E., Peniche-Lara G.F., Sulú Uicab J.E. Human Rickettsialpox, Southeastern Mexico. *Emerg. Infect. Dis.*, 2009, vol. 15, no. 10, pp. 1665–1667. doi: 10.3201/eid1510.081507
47. Zhang L., Jin J., Fu X., Raoult D., Fournier P.E. 2006. Genetic differentiation of Chinese isolates of *Rickettsia sibirica* by partial *ompA* gene sequencing and multispacer typing. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, vol. 44, no. 7, pp. 2465–2467. doi: 10.1128/JCM.02272-05
48. Zhu D.T., Xia W.Q., Rao Q., Liu S.S., Ghanim M., Wang X.W. Sequencing and comparison of the *Rickettsia* genomes from the whitefly *Bemisia tabaci* Middle East Asia Minor I. *Insect Science*, 2016, vol. 23, no. 4, pp. 531–542. doi: 10.1111/1744-7917.12367
49. Zhu Y., Fournier P.E., Ogata H., Raoult D. Multispacer typing of *Rickettsia prowazekii* enabling epidemiological studies of epidemic typhus. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, vol. 43, no. 9, pp. 4708–4712. doi: 10.1128/JCM.43.9.4708-4712.2005

**Авторы:**

**Еремеева М.Е.**, д.б.н., профессор, зав. лабораторией, Колледж народного здравоохранения им. Цзянь-Пин Хсу, Университет Южной Джорджии, Джорджия, Стейтсборо, США;  
**Стуржеон М.М.**, магистр общественного здравоохранения, стажер, Центр контроля и профилактики заболеваний, Атланта, Джорджия, США;  
**Уиллард Д.К.**, бакалавр биологических наук, стажер, Центр контроля и профилактики заболеваний, Атланта, Джорджия, США;  
**Карпати С.Е.**, д.б.н., микробиолог, Центр контроля и профилактики заболеваний, Атланта, Джорджия, США;  
**Мадан А.**, д.б.н., старший научный сотрудник, Кованс Геномик лаборатория, Редмонд, Вашингтон, США;  
**Даш Г.А.**, д.б.н., ведущий микробиолог и руководитель группы, Центр контроля и профилактики заболеваний, Атланта, Джорджия, США.

**Authors:**

**Eremeeva M.E.**, PhD, MD (Biochemistry), Professor, Laboratory Director, Jiann-Ping Hsu College of Public Health, Georgia Southern University, Statesboro, GA, USA;  
**Sturgeon M.M.**, MPH, Training Fellow, Rickettsial Zoonoses Branch, Division of Vector-Borne Diseases, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, USA;  
**Willard J.K.**, BS, Training Fellow, Rickettsial Zoonoses Branch, Division of Vector-Borne Diseases, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, USA;  
**Karpathy S.E.**, PhD, Microbiologist, Rickettsial Zoonoses Branch, Division of Vector-Borne Diseases, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, USA;  
**Madan A.**, PhD, Senior Research Scientist, Covance Genomics Laboratory, Redmond, WA, USA;  
**Dasch G.A.**, PhD, Leading Microbiologist and Group Leader, Rickettsial Zoonoses Branch, Division of Vector-Borne Diseases, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, USA.

Поступила в редакцию 01.11.2019  
 Отправлена на доработку 13.02.2020  
 Принята к печати 14.02.2020

Received 01.11.2019  
 Revision received 13.02.2020  
 Accepted 14.02.2020

# ИНДУКЦИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ С ФЕНОТИПОМ КЛЕТОК ПАМЯТИ В ЛЕГКИХ МЫШЕЙ ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ИММУНИЗАЦИИ ГРИППОЗНЫМ ВЕКТОРОМ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИМ МИКОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ БЕЛКИ

А.-П.С. Шурыгина<sup>1</sup>, Н.В. Заболотных<sup>2</sup>, Т.И. Виноградова<sup>2</sup>, К.А. Васильев<sup>1</sup>,  
Ж.В. Бузицкая<sup>1</sup>, М.А. Стукова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Совершенствование специфической профилактики туберкулеза остается одной из приоритетных задач фтизиатрии. Применение схем «прайм-буст» вакцинации, направленных на поддержание специфического иммунитета на адекватном уровне и формирование длительной протекции, основано на последовательном применении вакцины БЦЖ и вакцинных кандидатов, включающих протективные микобактериальные белки. Разработка новых подходов к профилактике туберкулеза требует понимания того, каким образом происходит формирование противотуберкулезного иммунного ответа и какие механизмы обеспечивают протекцию при туберкулезной инфекции. Так как туберкулез является инфекцией, передаваемой аэрогенным путем, эффективность вакцинации во многом зависит от формирования мукозального иммунитета с образованием долгоживущих и функционально активных Т-лимфоцитов с фенотипом клеток памяти в области дыхательных путей. Ранее нами показано, что включение в схему вакцинации бустирующей интраназальной иммунизации гриппозным вектором, экспрессирующим микобактериальные белки ESAT-6 и Ag85A (Flu/ESAT-6\_Ag85A), привело к выраженному повышению протективного эффекта БЦЖ по совокупности основных показателей тяжести экспериментальной туберкулезной инфекции. Целью данной работы являлось исследование влияния интраназальной иммунизации гриппозным вектором Flu/ESAT-6\_Ag85A на формирование антигенспецифических центральных и эффекторных клеток памяти в структуре CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и изучение цитокин-продуцирующей активности эффекторных Т-клеток (T<sub>EM</sub>) при использовании гриппозного вектора в стандартной и «прайм-буст» схемах вакцинации у мышей. Показано, что интраназальная иммунизация гриппозным вектором способствует увеличению доли антигенспецифических центральных CD4<sup>+</sup> Т-клеток памяти (T<sub>CM</sub>) в пуле активированных лимфоцитов легких и селезенки иммунизированных мышей, достигая статистически значимой разницы с группой БЦЖ по процентному содержанию CD4<sup>+</sup> T<sub>CM</sub> селезенки ( $p < 0,01$ ). В отличие от БЦЖ, вакцинация исследуемой кандидатной вакциной сопровождается аккумуляцией высококодифференцированных CD8 клеток-эффекторов в легких — органе-мишени развития туберкулезной инфекции. Сравнительная оценка

**Адрес для переписки:**

Стукова Марина Анатольевна  
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 15/17,  
НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева.  
Тел.: 8 (812) 499-15-21 (служебн.); +7 921 308-97-07 (моб.).  
E-mail: marina.stukova@influenza.spb.ru

**Contacts:**

Marina A. Stukova  
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Prof. Popova str., 15/17,  
Smorodintsev Research Institute of Influenza.  
Phone: +7 (812) 499-15-21 (office); +7 921 308-97-07 (mobile).  
E-mail: marina.stukova@influenza.spb.ru

**Библиографическое описание:**

Шурыгина А.-П.С., Заболотных Н.В., Виноградова Т.И., Васильев К.А.,  
Бузицкая Ж.В., Стукова М.А. Индукция Т-лимфоцитов с фенотипом  
клеток памяти в легких мышей при интраназальной иммунизации  
гриппозным вектором, экспрессирующим микобактериальные белки //  
Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 506–514. doi: 10.15789/2220-  
7619-IOL-1232

**Citation:**

Shurygina A.-P.S., Zabolotnykh N.V., Vinogradova T.I., Vasiliev K.A.,  
Buzitskaya Zh.V., Stukova M.A. Lung memory T-cell response in mice  
following intranasal immunization with influenza vector expressing  
mycobacterial proteins // Russian Journal of Infection and Immunity =  
Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 506–514. doi: 10.15789/2220-  
7619-IOL-1232

поствакцинального иммунного ответа клеточного типа при иммунизации вакцинным кандидатом на основе гриппозного вектора (интраназально) и вакциной БЦЖ (подкожно) показала преимущество мукозальной вакцинации в формировании функционально активных субпопуляций эффекторных CD4 и CD8 Т-лимфоцитов (CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup>) в легких, секретирующих IL-2, и полифункциональных клеток, способных к выработке двух (IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ ; IFN $\gamma$  и IL-2) и трех (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  и IL-2) цитокинов. Благодаря более выраженной эффекторной функции полифункциональных Т-лимфоцитов, данные клетки могут рассматриваться в качестве потенциальных иммунологических маркеров протективного иммунитета при туберкулезе.

**Ключевые слова:** гриппозный вектор, ESAT-6, Ag85A, вакцина БЦЖ, Т-клетки памяти, проточная цитометрия.

## LUNG MEMORY T-CELL RESPONSE IN MICE FOLLOWING INTRANASAL IMMUNIZATION WITH INFLUENZA VECTOR EXPRESSING MYCOBACTERIAL PROTEINS

Shurygina A.-P.S.<sup>a</sup>, Zabolotnykh N.V.<sup>b</sup>, Vinogradova T.I.<sup>b</sup>, Vasiliev K.A.<sup>a</sup>, Buzitskaya Zh.V.<sup>a</sup>, Stukova M.A.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> St. Petersburg Research Institute of Phthiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Improving specific prevention of tuberculosis continues to be a top priority in phthiology. “Prime-boost” vaccination schemes aim to maintain adequate levels of specific immunity while forming long-term protection. They are based on sequential use of BCG vaccine and new vaccine candidates expressing protective mycobacterial proteins. The development of new tuberculosis prevention approaches requires an understanding of how the anti-tuberculosis immune response forms and which mechanisms provide TB protection. Since tuberculosis is an airborne infection, vaccine effectiveness largely depends on mucosal immunity based on the formation of long-lived, functionally-active memory T-lymphocytes in the respiratory tract. We have previously shown that the influenza vector expressing ESAT-6 and Ag85A mycobacterial proteins (Flu/ESAT-6\_Ag85A) in vaccination scheme of intranasal boost immunization resulted in significant increase of BCG's protective effect according to key indicators aggregate data in experimental tuberculosis infection. The aim of this work was to study the effect of intranasal immunization with the Flu/ESAT-6\_Ag85A influenza vector on the formation of antigen-specific central and effector memory T cells and the cytokine-producing activity of effector T cells (TEM) in BCG standard and “BCG prime — influenza vector boost” vaccination schemes in mice. Intranasal immunization with the influenza vector has been shown to increase the proportion of antigen-specific CD4<sup>+</sup> central memory T cells (TCM) in the pool of activated lymphocytes of lung and spleen reaching significant differences from the BCG group in the percentage of spleen CD4<sup>+</sup> TCM ( $p < 0.01$ ). In contrast to BCG, vaccination with the studied vaccine candidate was accompanied by accumulation of highly differentiated CD8 effector cells in lung, the target organ during tuberculosis infection. Comparative evaluation of the cell-mediated, post-vaccine immune response after immunization with influenza-vector-based vaccine candidate (intranasal/mucosal) or BCG vaccine (subcutaneous) showed advantages in the mucosal group: in formation of functionally active subpopulations of effector CD4 and CD8 T lymphocytes (CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup>) in lungs secreting IL-2 as well as polyfunctional cells capable of coproducing two cytokines (IFN $\gamma$ /TNF $\alpha$  or IFN $\gamma$ /IL-2) or three cytokines (IFN $\gamma$ /TNF $\alpha$ /IL-2). Due to their more pronounced effector function, polyfunctional T-lymphocytes can be considered to be potential immunological markers of protective immunity in tuberculosis.

**Key words:** influenza vector, ESAT-6\_Ag85A, BCG vaccine, memory T cells, flow cytometry.

## Введение

Разработка путей повышения эффективности специфической профилактики туберкулеза по-прежнему остается одной из приоритетных задач фтизиатрии, что обусловлено, в частности, широким распространением туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, резистентного к терапии эффективными противотуберкулезными препаратами. При исследовании иммунного ответа клеточного типа, обеспечивающего формирование защиты от туберкулеза, особое значение придается анализу влияния профилактической вакцинации на генерацию, жизнеспособность и функциональную активность Т-клеток памяти, поскольку угасание напряженности поствакцинального иммунитета при вакцинации БЦЖ (BCG, Bacillus Calmette–Guérin) связывают

именно с неспособностью стандартной вакцины стимулировать образование долгоживущих «центральных» Т-клеток памяти. БЦЖ индуцирует преимущественно эффекторные клетки памяти (T<sub>EM</sub>) фенотипа CD4<sup>+</sup>, постепенно исчезающие в течение 10–15 лет, что приводит к бесконтрольности экзогенной реинфекции [9, 12]. Кроме того, за счет преимущественной стимуляции CD4 Т-клеток при вакцинации БЦЖ нарушается оптимальное сочетание CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеточных звеньев иммунной системы, необходимое для эффективной протекции [17]. Угасание протективного эффекта вакцинации БЦЖ возможно обусловлено и цитокин-продуцирующим потенциалом Т-клеток памяти, характеризующим их функциональную активность и тесно связанным с эффективностью новых схем специфической иммунизации [8, 9, 13].

В данной работе оценивался ответ на иммунизацию рекомбинантным гриппозным вектором с модифицированным геном NS1, экспрессирующим химерный микобактериальный белок ESAT-6\_Ag85A (Flu/ESAT-6\_Ag85A) и вызывающим в зоне вирусной репликации продукцию интерферонов первого типа и широкого спектра провоспалительных цитокинов, способствующих поляризации иммунного ответа в сторону Th1-звена [15]. За счет интраназального введения рекомбинантный гриппозный вектор обеспечивает формирование иммунного ответа на уровне слизистых оболочек верхних дыхательных путей, что имеет большое значение при туберкулезе вследствие аэрогенного пути заражения при данной инфекции.

С целью формирования длительного протективного поствакцинального иммунного ответа в последние годы активно исследуется схема «прайм-буст» вакцинации, в которой для праймирования иммунного ответа используется БЦЖ, а для последующего бустирования — вакцины нового поколения. Результативность гетерологичной вакцинации при туберкулезной инфекции показана при бустерной иммунизации несколькими кандидатами, экспрессирующими протективные микобактериальные антигены на основе субъединичных и различных вариантов векторных вакцин [11, 13, 18]. Нами ранее получен выраженный протективный эффект и активация Th1 иммунитета при применении в качестве «буст»-вакцины Flu/ESAT-6\_Ag85A [1].

В данной работе исследовали влияние иммунизации аттенуированным гриппозным вектором, экспрессирующим белки ESAT-6 и Ag85A *M. tuberculosis* (Flu/ESAT-6\_Ag85A), на содержание антигенспецифических центральных и эффекторных клеток памяти в структуре CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и цитокин-продуцирующую активность Т-клеток памяти с фенотипом CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup>.

## Материалы и методы

*Лабораторные животные.* Исследования выполнены согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 266 МЗ РФ от 19.06.2003). В работе были использованы самцы мышей линии C57/black/6 в возрасте 6–8 недель. Процедуры, проводимые с животными, были согласованы с Комиссией по биоэтике ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России на предмет соответствия регулирующим актам.

*Вакцинный штамм.* В работе использован вакцинный штамм Flu/ESAT-6\_Ag85A, полученный ранее (Kuznetsova I. и соавт., 2014). В рекомбинантном гене NS (гес NS) вируса гриппа после последовательности, кодирующей первые

106 аминокислот NS1 белка (нормальный размер белка NS1 составляет 230 аминокислотных остатков), следует последовательность, кодирующая микобактериальные белки. При этом ESAT-6 экспрессируется в шивке с NS1 белком (фьюжен-белок), а Ag85A отщепляется при помощи сайта протеолитического расщепления. Для обеспечения секреции второго белка-вставки во внешнюю среду зараженной клетки перед последовательностью, кодирующей белок, введена последовательность, кодирующая SP-IgK-сигнальный пептид иммуноглобулина.

*Иммунизация животных.* Мышей линии C57/black/6 иммунизировали Flu/ESAT-6\_Ag85A интраназально (30 мкл, 6,0 lg ТИД<sub>50</sub>/мышь, однократно) под легкой эфирной анестезией. Животным контрольной группы вводили эквивалентный объем фосфатно-буферного раствора (плацебо). В качестве препарата сравнения использовали вакцину БЦЖ (10<sup>5</sup> КОЕ/мышь подкожно, однократно). В схеме гетерологичной вакцинации «буст»-иммунизацию мышей Flu/ESAT-6\_Ag85A (30 мкл, 6,0 lg ТИД<sub>50</sub>/мышь, однократно) проводили через 4 месяца после праймирования мышей БЦЖ (10<sup>5</sup> КОЕ/мышь подкожно, однократно). Контролем служили мыши, вакцинированные только БЦЖ.

*Оценка поствакцинального иммунного ответа.* Поствакцинальный иммунный ответ оценивали методом внутриклеточного окрашивания цитокинов в суспензии клеток интерстиция легких через 9 и 21 день после иммунизации животных. После перфузии правого предсердия 10 мл холодного фосфатного буфера (DPBS), у животных производили забор органов. Далее предварительно обработанные ферментами легкие (45 мин, 37°C раствор коллагеназы (Sigma) 0,5 мг/мл и ДНКазы I (Sigma) 10 мкг/мл) подвергали механической диссоциации с помощью гомогенизатора «Tissue Lyser II». После чего, гомогенаты тканей пропускали через 70 мкм клеточный фильтр. Клетки однократно отмывали в DPBS, содержащем 5% фетальной телячьей сыворотки (Gibco), 1% раствора пенициллина/стрептомицина (Gibco), с добавлением 50 мкМ 2-Меркаптоэтола (Sigma). Лизис эритроцитов осуществляли АСК буфером (0,15 М NH<sub>4</sub>Cl, 10 мМ NaHCO<sub>3</sub>, 1 мМ Na<sub>2</sub>EDTA), с последующей отмывкой клеток в среде RPMI 1640 (Gibco), содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки (Gibco), 1% раствора пенициллина/стрептомицина (Gibco). После подсчета, клетки рассеивали в плоскостонные культуральные 96-луночные планшеты (Nunc) с плотностью 1 × 10<sup>6</sup> клеток/луночка.

*Пробоподготовка и иммунофлуоресцентное окрашивание.* Клетки стимулировали рекомбинантными белками ESAT-6 и Ag85A (Novus Biologicals) 5 мкг/мл в присутствии костиму-

лирующих антител к CD28 (BD Biosciences) при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Культуральную среду и РМА (Sigma) использовали в качестве отрицательного и положительного контроля соответственно. После 12 часов инкубации в лунки добавляли ингибитор белкового транспорта GolgiPlug (BD Biosciences) и продолжали стимуляцию еще в течение 4 часов. Далее клетки переносили в V-донные 96-луночные планшеты (Nunc), в которых производили последовательное окрашивание ZombiRed (BioLegend) и антителами к поверхностным клеточным маркерам CD3-PECy7 (BioLegend), CD4 или CD8-PerCPCy5.5 (BD Biosciences), CD 44-BV510 (BioLegend), CD62L-APCCy7 (BioLegend). Для снижения вероятности неспецифического окрашивания добавляли реагент TrueStain (BD Biosciences).

Для окрашивания внутриклеточных цитокинов использовали антитела к IFN $\gamma$ -FITC, IL-2-PE и TNF $\alpha$ -BV421 (BioLegend). Фиксацию и пермеабиллизацию клеток осуществляли с помощью набора «BD Biosciences Cytotfix/Cytoperm», согласно инструкции производителя. Сбор данных проводили на проточном цитометре «BD Sauto II» в программе «BD FACS Diva» (BD Biosciences).

**Анализ данных проточной цитометрии.** Анализ данных проточной цитометрии осуществляли в программном обеспечении BD FACS Diva (BD Biosciences) и/или Kaluza 1.3 (Beckman Coulter).

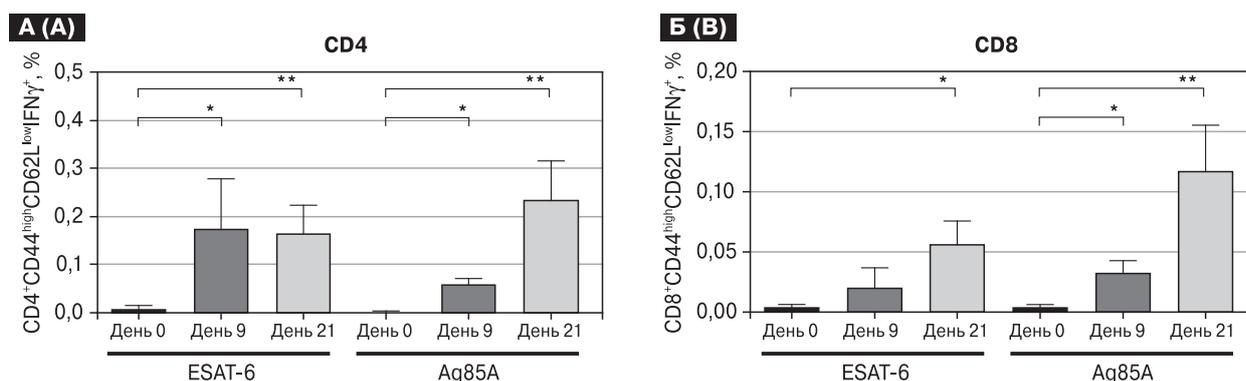
**Статистическую обработку** данных проводили в программе GraphPad Prizm 6.0. В зависимости от условий эксперимента использовали

непараметрический критерий Манна–Уитни или параметрический критерий Стьюдента (t-тест). Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты

**Формирование IFN $\gamma$ -продуцирующих эффекторных Т-клеток памяти.** Генерация эффекторных Т-лимфоцитов, продуцирующих IFN $\gamma$  (Th1), и их накопление в очаге инфекции (легкие) является одним из ключевых механизмов протективного иммунитета к *M. tuberculosis*. В этой связи на первом этапе изучалось влияние интраназальной иммунизации мышей гриппозным вектором Flu/ESAT-6\_Ag85A на образование популяций IFN $\gamma$ -продуцирующих Т-лимфоцитов с поверхностными маркерами эффекторных Т-клеток памяти CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup> (T<sub>EM</sub>).

Формирование пула специфических IFN $\gamma$ -продуцирующих лимфоцитов в Т-клеточных популяциях гомогенатов легких мышей, иммунизированных Flu/ESAT-6\_Ag85A, по сравнению с группой плацебо обнаружено уже на 9-й день после вакцинации (рис. 1). На 21-й день отмечено дальнейшее повышение процентного содержания IFN $\gamma$ -секретирующих CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток в ответ на оба специфических индуктора (микобактериальные белки ESAT-6 и Ag85A), достигающее достоверных различий с контрольной группой. Именно этот срок наблюдения выбран для дальнейших исследований.



**Рисунок 1. Продукция IFN $\gamma$  эффекторными Т-клетками памяти с фенотипом CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup> у мышей C57/black/6 через 9 и 21 день после однократной интраназальной вакцинации Flu/ESAT-6\_Ag85A**

Figure 1. IFN $\gamma$  immune response of CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup> effector memory T-cells in C57/black/6 mice 9 and 21 days after a single intranasal vaccination with Flu/ESAT-6\_Ag85A

**Примечание.** Процентное содержание IFN $\gamma$ -продуцирующих T<sub>EM</sub> клеток в структуре CD4<sup>+</sup> (A) и CD8<sup>+</sup> (B) Т-лимфоцитов легких мышей C57/black/6 в ответ на специфическую стимуляцию рекомбинантными белками ESAT-6 и Ag85A (5 мкг/10<sup>6</sup> клеток). Данные представлены как среднее + ошибка среднего для каждой группы. \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,005$  (непараметрический критерий Манна–Уитни).

Note. The percentage of the IFN $\gamma$ -producing T<sub>EM</sub> cells from the total number of effector CD4<sup>+</sup> (A) and CD8<sup>+</sup> (B) T-cells in the lungs of C57/black/6 mice in response to specific stimulation by recombinant proteins ESAT-6 and Ag85A (5  $\mu$ g/10<sup>6</sup> cells) is shown. Data are presented as mean + standard error of mean for each group. \* —  $p < 0.05$ , \*\* —  $p < 0.005$  (non-parametric Mann–Whitney test).

**Фенотипические характеристики Т-клеток памяти легких в ответ на введение гриппозного вектора Flu/ESAT-6\_Ag85A.** Иммунофенотипирование пула активированных лимфоцитов легких проводили через 21 день после иммунизации мышей C57black/6 вектором Flu/ESAT-6\_Ag85A либо БЦЖ, определяя уровень экспрессии на поверхности лимфоцитов молекул CD44 (маркер Т-клеток памяти у мышей) и CD62L (рецептор хомминга, способствующий миграции Т-клеток во вторичные лимфоидные органы). Это позволило оценить эффекторные (T<sub>EM</sub>) и центральные (T<sub>CM</sub>) Т-клетки памяти с фенотипом CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup> и CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>high</sup> соответственно. Поскольку БЦЖ не содержит ранний секреторный антиген ESAT-6, в качестве специфического индуктора использовали белок Ag85A.

Обнаружено, что вакцинация Flu/ESAT-6\_Ag85A значимо повысила относительное число клеток с фенотипом эффекторных клеток памяти (T<sub>EM</sub>) в пуле CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов легких мышей (табл. 1), как в сравнении с группой плацебо (41,41±5,49% против 27,88±4,99%, p < 0,001), так и с группой БЦЖ (41,41±5,49% против 26,54±2,36%, p < 0,0001). В то же время у мышей, вакцинированных гриппозным вектором и БЦЖ, практически не изменилась доля CD4<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток, которая составляла 40,25±4,84% для группы плацебо, 41,5±6,72% и 37,95±2,11% для групп, вакцинированных гриппозным вектором и БЦЖ соответственно.

Анализ субпопуляций Т-лимфоцитов с фенотипом центральных Т-клеток памяти (T<sub>CM</sub>) в пуле CD4<sup>+</sup> лимфоцитов селезенки мышей, иммунизированных Flu/ESAT-6\_Ag85A, вы-

явил самое высокое содержание T<sub>CM</sub> клеток памяти (6,66±1,01%), статистически значимо превышавшее значения группы плацебо (p < 0,008), и группы мышей, вакцинированных БЦЖ (p < 0,01). При этом в легких, где по сравнению с группой плацебо (2,99±0,23%) в обеих группах вакцинированных мышей доля CD4<sup>+</sup> T<sub>CM</sub> лимфоцитов была на значительно более высоком уровне (4,31±0,41% для группы гриппозного вектора и 4,67±1,37% для группы БЦЖ, p < 0,0001, p < 0,01 соответственно), достоверных различий в процентном содержании T<sub>CM</sub> между группами вакцинированных животных обнаружено не было. В CD8<sup>+</sup> субпопуляции Т-лимфоцитов по доле T<sub>CM</sub> во всех опытных группах мышей ни в гомогенатах легких, ни в селезенке различий зарегистрировано не было.

**Внутриклеточная продукция IFNγ, IL-2 и TNFα антигенспецифическими CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> эффекторными Т-клетками памяти в ответ на введение гриппозного вектора Flu/ESAT-6\_Ag85A или БЦЖ.** Сравнение формирования цитокинпродуцирующих Т-клеток памяти с фенотипом CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup> в ответ на специфическую стимуляцию при вакцинации Flu/ESAT-6\_Ag85A и БЦЖ проведено на 21 день после однократной иммунизации. В качестве специфического индуктора использовали белок Ag85A.

Выявлено, что в группе БЦЖ-вакцинированных мышей в пуле CD4<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток легких доминируют клетки, секретирующие только один цитокин: IFNγ, TNFα или IL-2 (рис. 2). Также присутствуют минорные популяции клеток, секретирующих 2 цитокина: IFNγ и IL-2; TNFα и IL-2. В структуре CD8<sup>+</sup> полифункциональных клеток, секретирующих 2 и 3 цитоки-

**Таблица 1. Процент эффекторных (T<sub>EM</sub>) и центральных (T<sub>CM</sub>) клеток памяти от общего числа CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в легких и селезенке через 21 день после однократной иммунизации Flu/ESAT-6\_Ag85A мышей C57/black/6**

Table 1. The percentage of effector (T<sub>EM</sub>) and central memory (T<sub>CM</sub>) cells of the total number of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-lymphocytes in the lungs and spleen 21 days after a single immunization of C57/black/6 mice with Flu/ESAT-6\_Ag85A

Группы Groups	CD4 <sup>+</sup>		CD8 <sup>+</sup>	
	T <sub>EM</sub> (%)	T <sub>CM</sub> (%)	T <sub>EM</sub> (%)	T <sub>CM</sub> (%)
<b>Легкие/Lungs</b>				
Плацебо/Placebo	40,25±4,84	2,99±0,23	27,88±4,99	12,84±2,86
Flu/ESAT-6_Ag85A	41,5±6,72	4,31±0,41 p < 0,0001*	41,41±5,49 p < 0,001* p < 0,0001**	11,48±1,72
БЦЖ/BCG	37,95±2,11	4,67±1,37 p < 0,01*	26,54±2,36	11,31±3,90
<b>Селезенка/Spleen</b>				
Плацебо/Placebo	29,67±4,32	4,53±1,24	20,74±6,05	17,88±3,60
Flu/ESAT-6_Ag85A	29,01±1,09	6,66±1,01 p < 0,008*	19,76±3,06	19,55±1,53
		p < 0,01**		
БЦЖ/BCG	31,81±4,17	4,95±0,96	17,58±7,87	17,00±5,75

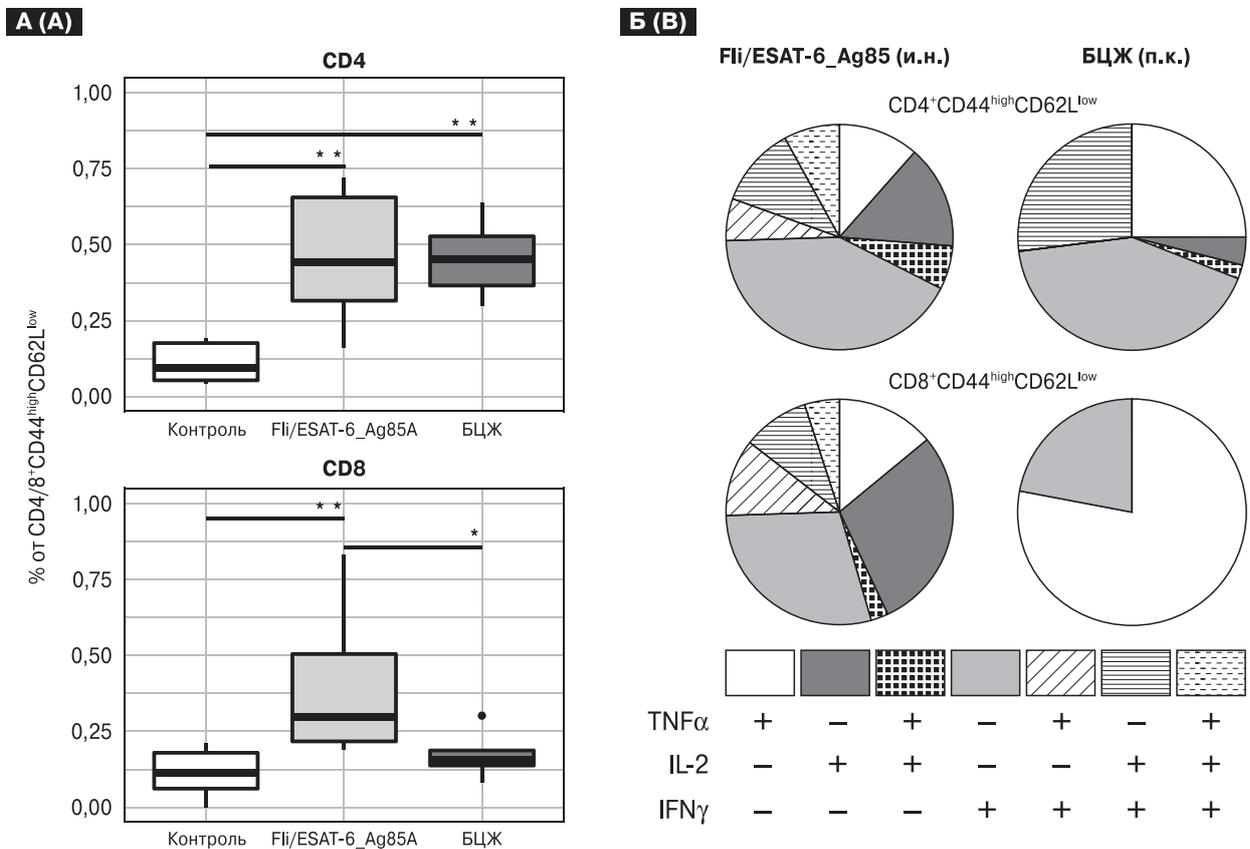
**Примечание:** \* — различия достоверны при сравнении с контролем (плацебо); \*\* — различия достоверны при сравнении с группой БЦЖ.  
Note: \* — differences are significant in comparison with control (placebo); \*\* — differences are significant in comparison with BCG group.

на, обнаружено не было, все T<sub>EM</sub> клетки продуцировали либо IFN $\gamma$ , либо TNF $\alpha$ .

Иммунизация Flu/ESAT-6\_Ag85A привела к повышению суммарного процентного содержания цитокин-продуцирующих антиген-специфических CD8<sup>+</sup> клеток памяти легких с фенотипом CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>low</sup> (рис. 2А) и к расширению спектра цитокин-продуцирующих CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток. У вакцинированных Flu/ESAT-6\_Ag85A мышей отмечалось увеличение числа CD4<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток памяти, секретирующих IL-2, и полифункциональных клеток, секретирующие 2 и 3 цитокина (IFN $\gamma$ , IL-2 и TNF $\alpha$ , рис. 2Б). В структуре CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток обнаружено появление T<sub>EM</sub> клеток памяти — продуцентов IL-2, а также полифункциональных двойных и тройных антигенспецифических T<sub>EM</sub> продуцентов.

*Характеристики специфических CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> эффекторных Т-клеток памяти, образующихся при «буст»-вакцинации гриппозным вектором БЦЖ-праймированных мышей.* При «буст»-вакцинации Flu/ESAT-6\_Ag85A мышей, предварительно (за 4 месяца) праймированных БЦЖ, анализ субпопуляционного состава антиген-специфических цитокин-продуцирующих T<sub>EM</sub>-клеток памяти в структуре CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> лимфоцитов легких, проводился через 4 недели после иммунизации гриппозным вектором.

Сравнение субпопуляций антигенспецифических эффекторных клеток памяти легких группы «буст»-иммунизированных мышей и животных контрольной группы (вакцинированные только БЦЖ) показало расширение репертуара цитокин-продуцирующих CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> лимфоцитов у «прайм-буст» вак-



**Рисунок 2. Продукция IFN $\gamma$ , IL-2, TNF $\alpha$  эффекторными CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетками памяти легких мышей C57/black/6 через 21 день после однократной вакцинации Flu/ESAT-6\_Ag85A (интраназально) либо БЦЖ (подкожно) в ответ на стимуляцию белком Ag85A**

Figure 2. Production of IFN $\gamma$ , IL-2, TNF $\alpha$  by effector CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> memory T-cells from the lungs of C57/black/6 mice 21 days after a single vaccination with Flu/ESAT-6\_Ag85A (intranasal) or BCG (subcutaneous) in response to stimulation with Ag85A protein

**Примечание.** А) Суммарное процентное содержание цитокин-продуцирующих Ag85A-специфических CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток легких. Б) Круговые диаграммы отражают относительное содержание различных цитокин-продуцирующих Ag85A-специфических популяций CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток легких. \* — p < 0,05; \*\* — p < 0,005 непараметрический критерий Манна–Уитни.

Note. A) The percentage of the total cytokine-producing Ag85A-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> cells of the lungs. B) The relative content of different cytokine-producing populations of Ag85A-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> cells of the lungs is shown in the pie charts. \* — p < 0.05, \*\* — p < 0.005 (non-parametric Mann–Whitney test).

цинированных животных (табл. 2). Так, если в пуле эффекторных CD4<sup>+</sup> клеток памяти легких ходе первичного иммунного ответа к БЦЖ сформированы только продуценты TNFα, IFNγ и двойные продуценты IFNγ<sup>+</sup>IL-2<sup>+</sup>, то у «буст»-вакцинированных Flu/ESAT-6\_Ag85A мышей кроме выше упомянутых популяций обнаружены клетки, секретирующие IL-2<sup>+</sup> (0,07%) и клетки — тройные продуценты IFNγ<sup>+</sup>IL-2<sup>+</sup>TNFα<sup>+</sup> (0,05%). В популяции же CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток памяти легких наряду с лимфоцитами, продуцирующими только TNFα или IFNγ, детектированы клетки, секретирующие IL-2 (0,11%), и полифункциональные клетки — двойные продуценты IFNγ<sup>+</sup>TNFα<sup>+</sup> (0,05%).

Отразилась «буст»-иммунизация Flu/ESAT-6\_Ag85A и на суммарном процентном содержании цитокин-продуцирующих антигенспецифических CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> клеток памяти легких, повысив его более чем в 2 раза (с 0,18% у вакцинированных только БЦЖ до 0,38% в группе «буст»-вакцинированных гриппозным вектором).

### Обсуждение

Неспособность вакцины БЦЖ обеспечить долгосрочный протективный иммунитет и недостаточная неэффективность в защите от основной формы туберкулезной инфекции — легочного туберкулеза — определяет необходимость исследований иммунологических механизмов эффективного поствакцинального ответа [7, 12]. Одним из решающих факторов

выбора эффективного вакцинного кандидата является способность противотуберкулезной вакцины влиять на генерацию, жизнеспособность и функциональную активность Т-клеток памяти, поскольку в основе всех действующих методов вакцинации лежит феномен генерации «центральных» Т-клеток памяти (T<sub>CM</sub>), определяющих долговременные эффекты вакцинации. Поэтому поиск противотуберкулезных вакцинных препаратов, способных стимулировать образование долгоживущих и функционально активных Т-лимфоцитов с фенотипом клеток памяти, является одной из первостепенных задач фтизиатрии.

В данном исследовании однократная интраназальная иммунизация мышей C57/black/6 рекомбинантным гриппозным вектором Flu/ESAT-6\_Ag85A привела к значимому повышению содержания в пуле лимфоцитов селезенки антигенспецифических T<sub>CM</sub> (CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>high</sup>) клеток. Поскольку при этом у мышей, вакцинированных БЦЖ, существенного увеличения доли T<sub>CM</sub> спленоцитов не отмечено, данный эффект иммунизации Flu/ESAT-6\_Ag85A позволяет предположить о способности вакцины обеспечивать долгосрочный поствакцинальный иммунитет для адекватного иммунного ответа при повторной встрече организма с *M. tuberculosis*. В легких иммунизация Flu/ESAT-6\_Ag85A вызвала повышение содержания антигенспецифических CD8<sup>+</sup> T<sub>EM</sub> лимфоцитов, активность которых связывают с обеспечением контроля над реактивацией латентных очагов

**Таблица 2. Процент различных популяций Ag85A-специфических цитокин-продуцирующих эффекторных Т-клеток памяти (T<sub>EM</sub>) от общего числа CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов легких через 4 недели после «буст»-иммунизации Flu/ESAT-6\_Ag85A мышей C57/black/6 праймированных БЦЖ**

Table 2. The percentage of different populations of Ag85A-specific cytokine-producing effector (T<sub>EM</sub>) cells of the total number of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-lymphocytes in the lungs 4 weeks after a boost-immunization of BCG-primed C57/black/6 mice with Flu/ESAT-6\_Ag85A

Цитокинпродуцирующие клетки (%) Cytokine-producing cells	CD4 <sup>+</sup> CD44 <sup>high</sup> CD62L <sup>low</sup> (%)		CD8 <sup>+</sup> CD44 <sup>high</sup> CD62L <sup>low</sup> (%)	
	БЦЖ BCG	БЦЖ → FLU/ ESAT-6_Ag85A BCG → FLU/ ESAT-6_Ag85A	БЦЖ BCG	БЦЖ → FLU/ ESAT-6_Ag85A BCG → FLU/ ESAT-6_Ag85A
IFNγ <sup>-</sup> IL-2-TNFα <sup>+</sup>	0,13	0,15	0,14	0,11
IFNγ <sup>-</sup> IL-2 <sup>+</sup> TNFα <sup>-</sup>	0,02	0,07	0,00	0,11
IFNγ <sup>-</sup> IL-2 <sup>+</sup> TNFα <sup>+</sup>	0,01	0,02	0,00	0,04
IFNγ <sup>+</sup> IL-2-TNFα <sup>-</sup>	0,22	0,18	0,06	0,05
IFNγ <sup>+</sup> IL-2-TNFα <sup>+</sup>	0,00	0,01	0,00	0,05
IFNγ <sup>+</sup> IL-2 <sup>+</sup> TNFα <sup>-</sup>	0,14	0,06	0,00	0,01
IFNγ <sup>+</sup> IL-2 <sup>+</sup> TNFα <sup>+</sup>	0,00	0,05	0,00	0,02
<b>Общее количество</b> Total number	0,51	0,54	0,18	0,38
	TNFα <sup>+</sup> (0,13%) IFNγ <sup>+</sup> (0,22%) IFNγ <sup>+</sup> IL-2 <sup>+</sup> (0,14%)	TNFα <sup>+</sup> (0,15%) IFNγ (0,18%) IL-2 <sup>+</sup> (0,07%) IFNγ <sup>+</sup> IL-2 <sup>+</sup> (0,06%) IFNγ <sup>+</sup> IL-2 <sup>+</sup> TNFα <sup>+</sup> (0,05%)	TNFα (0,14%) IFNγ (0,06%)	TNFα (0,11%) IL-2 (0,11%) IFNγ (0,05%) IFNγ <sup>+</sup> TNFα <sup>+</sup> (0,05%)

эндогенной инфекции, а неспособность БЦЖ индуцировать продукцию  $CD8^+$  Т-клеток считается одним из важнейших ее недостатков [3, 16]. Вероятнее всего этот эффект Flu/ESAT-6\_Ag85A обусловлен интраназальным способом введения вектора, ориентированным на формирование иммунного ответа на уровне слизистых оболочек верхних дыхательных путей, поскольку известно, что при применении мукозальных вакцин образуются ассоциированные с тканью эффекторные  $CD8^+$  Т-клетки памяти [4, 14].

Иммунизация Flu/ESAT-6\_Ag85A, индуцирующая по представленным данным формирование выраженного антигенспецифического  $CD4^+CD8^+$  Th1 ответа  $T_{EM}$  лимфоцитов легких, в сравнении с БЦЖ привела к увеличению числа цитокин-продуцирующих антигенспецифических  $CD8^+$   $T_{EM}$  клеток памяти, к повышению содержания  $T_{EM}$  клеток — продуцентов IL-2 и полифункциональных  $CD4^+$  и  $CD8^+$   $T_{EM}$  клеток, продуцирующих IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  и IL-2, появление которых тесно связано с протективным характером поствакцинального иммунного ответа [5, 8].

Способность Flu/ESAT-6\_Ag85A генерировать образование полифункциональных антигенспецифических  $CD4^+$  и  $CD8^+$   $T_{EM}$  клеток памяти подтверждена и при включении вектора в схему гетерологичной вакцинации («прайм-буст» стратегия), считающейся на настоящий момент наиболее перспективным путем повышения длительности протекции. При этом Flu/ESAT-6\_Ag85A при «буст»-иммунизации мышшей, праймированных БЦЖ, как и в стандартной схеме вакцинации, обеспечила повышение суммарного процента содержания антигенспецифических цитокин-продуцирующих  $CD8^+$   $T_{EM}$  клеток памяти легких, индуцировала образование  $CD4^+$  и  $CD8^+$   $T_{EM}$  клеток памяти, секретирующих IL-2, и полифункциональных  $T_{EM}$  клеток. Эти результаты подтверждают перспективность включения Flu/ESAT-6\_Ag85A в схему «прайм-буст» вакцинации, поскольку по данным литературы эффективное бустирование с повышением протективного эффекта вакцинации всегда сопровождается усилением Th1 ответа клеточного ответа, ответа цитотоксичес-

ких  $CD8^+$  клеток [6, 18] и увеличением числа полифункциональных  $CD4^+$  Т-клеток [13, 18]. В некоторых работах при этом подчеркивается значимость повышения вакцинными кандидатами доли  $CD4^+$  Т-клеток, продуцирующих IL-2 клеток [13], поскольку их считают маркером функционального истощения Т-клеток [2, 10].

Выявленные особенности антигенспецифического ответа  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клеток памяти на иммунизацию Flu/ESAT-6\_Ag85A в стандартной и в «прайм-буст» схемах вакцинации дополняют предыдущие исследования по протективному и иммулотропному эффекту вакцины при экспериментальном туберкулезе [1] и могут способствовать выбору иммунологических маркеров эффективного иммунитета при исследовании вакцинных кандидатов.

## Заключение

Интраназальная вакцинация мышшей C57/black/6 векторной вакциной Flu/ESAT-6\_Ag85A при сравнении с эффектом БЦЖ сопровождается:

- увеличением доли антигенспецифических центральных  $CD4^+$  Т-клеток памяти в пуле активированных лимфоцитов легких и селезенки иммунизированных мышшей, достигшей статистически значимой разницы с группой БЦЖ по процентному содержанию  $CD4^+$   $T_{CM}$  селезенки ( $p < 0,01$ );
- аккумуляцией высокодифференцированных  $CD8$  клеток-эффекторов в органе-мишени туберкулезной инфекции — легких;
- формированием функционально активных субпопуляций антигенспецифических эффекторных  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клеток памяти ( $CD44^{hi}CD62L^{lo}$ ), секретирующих IL-2 и полифункциональных клеток, способных к выработке двух (IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ ; IFN $\gamma$  и IL-2) и трех (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  и IL-2) цитокинов.

«Буст»-вакцинация Flu/ESAT-6\_Ag85A мышшей C57Black/6, праймированных БЦЖ, также привела к генерации антигенспецифических IL-2-продуцирующих  $CD4^+$  и  $CD8^+$   $T_{EM}$  лимфоцитов и к появлению полифункциональных  $CD4^+$  и  $CD8^+$   $T_{EM}$  клеток памяти.

## Список литературы/References

1. Заболотных Н.В., Шурыгина А.-П.С., Виноградова Т.И., Витовская М.Л., Хайруллин Б.М., Сандыбаев Н.Т., Бузицкая Ж.В., Стукова М.А. Усиление протективного эффекта вакцины БЦЖ при мукозальной буст-иммунизации гриппозным вектором, экспрессирующим микобактериальные белки ESAT-6 и Ag85A // Биофармацевтический журнал. 2016. Т. 8, № 6. С. 25–31. [Zabolotnykh N.V., Vinogradova T.I., Shurygina A.-P.S., Khairullin B.M., Sandybaev N.T., Buzitskaya Zh.V., Stukova M.A. Mucosal immunization with influenza vector expressing ESAT-6 and Ag85A antigens of M. tuberculosis enhances protective effect of BCG vaccine. *Biofarmatsevticheskiy zhurnal = Journal of Biopharmaceuticals*, 2016, vol. 8, no. 6, pp. 25–31. (In Russ.)]
2. Bai C., He J., Niu H., Hu L., Luo Y., Liu X., Peng L., Zhu B. Prolonged intervals during Mycobacterium tuberculosis subunit vaccine boosting contributes to eliciting immunity mediated by central memory-like T cells. *Tuberculosis*, 2018, vol. 110, pp. 104–111. doi: 10.1016/j.tube.2018.04.006C
3. Behar S.M. Antigen-specific  $CD8^+$  T cells and protective immunity to tuberculosis. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2013, vol. 783, pp. 141–163. doi: 10.1007/978-1-4614-6111-1\_8

4. Beverley P.C., Sridhar S., Lalvani A., Tchilian E.Z. Harnessing local and systemic immunity for vaccines against tuberculosis. *Mucosal Immunol.*, 2014, vol. 7, no. 1, pp. 20–26. doi: 10.1038/mi.2013.99
5. Cha S.B., Kim W.S., Kim J.S., Kim H.M., Kwon K.W., Han S.J., Cho S.N., Coler R.N., Reed S.G., Shin S.J. Pulmonary immunity and durable protection induced by the ID93/GLA-SE vaccine candidate against the hyper-virulent Korean Beijing Mycobacterium tuberculosis strain K. *Vaccine*, 2016, vol. 34, no. 19, pp. 2179–2187. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.03.029
6. Ding Y., Zheng H., Feng C., Wang B., Liu C., Mi K., Cao H., Meng S. Heat-shock protein gp96 enhances T cell responses and protective potential to bacillus Calmette–Guérin vaccine. *Scand. J. Immunol.* 2016, vol. 84, no. 4, pp. 222–228. doi: 10.1111/sji.12463
7. Kaveh D.A., Garcia-Pelayo M.C., Hogarth P.J. Persistent BCG bacilli perpetuate CD4 T effector memory and optimal protection against tuberculosis. *Vaccine*, 2014, vol. 32, pp. 6911–6918. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.10.041
8. Kim W.S., Kim J.S., Kim H.M., Kwon K.W., Eum S.Y., Shin S.J. Comparison of immunogenicity and vaccine efficacy between heat-shock proteins, HSP70 and GrpE, in the DnaK operon of Mycobacterium tuberculosis. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8, no. 1: 14411.
9. Liang J., Teng X., Yuan X., Zhang Y., Shi C., Yue T., Zhou L., Li J., Fan X. Enhanced and durable protective immune responses induced by a cocktail of recombinant BCG strains expressing antigens of multistage of Mycobacterium tuberculosis. *Mol. Immunol.*, 2015, vol. 66, no. 2, pp. 392–401. doi: 10.1016/j.molimm.2015.04.017
10. Lindstrom T., Knudsen N.P., Agger E.M., Andersen P. Control of chronic Mycobacterium tuberculosis infection by CD4 KLRG1-, IL-2-secreting central memory cells. *J. Immunol.*, 2013, vol. 190, pp. 6311–6319. doi: 10.4049/jimmunol.1300248
11. Ma J., Tian M., Fan X., Yu Q., Jing Y., Wang W., Li L., Zhou Z. Mycobacterium tuberculosis multistage antigens confer comprehensive protection against pre- and post-exposure infections by driving Th1-type T cell immunity. *Oncotarget*, 2016, vol. 7, no. 39, pp. 63804–63815. doi: 10.18632/oncotarget.11542
12. Moliva J.I., Turner J., Torrelles J.B. Immune responses to bacillus Calmette–Guérin vaccination: why do they fail to protect against Mycobacterium tuberculosis? *Front. Immunol.*, 2017, vol. 8: 407. doi: 10.3389/fimmu.2017.00407
13. Nandakumar S., Kannanganat S., Dobos K.M., Lucas M., Spencer J.S., Amara R.R., Plikaytis B.B., Posey J.E., Sable S.B. Boosting BCG-primed responses with a subunit Apa vaccine during the waning phase improves immunity and imparts protection against Mycobacterium tuberculosis. *Sci. Rep.*, 2016, vol. 6: 25837. doi: 10.1038/srep25837
14. Perdomo C., Zedler U., Kühl A.A., Lozza L., Saikali P., Sander L.E., Vogelzang A., Kaufmann S.H., Kupz A. Mucosal BCG vaccination induces protective lung-resident memory T cell populations against tuberculosis. *MBio*, 2016, vol. 7, no. 6: e.01686. doi: 10.1128/mBio.01686-16
15. Romanova J., Krenn B.M., Wolschek M., Ferko B., Romanovskaja-Romanko E., Morokutti A., Shurygina A.P., Nakowitsch S., Ruthsatz T., Kiefmann B., König U., Bergmann M., Sachet M., Balasingam S., Mann A., Oxford J., Slais M., Kiselev O., Muster T., Egorov A. Preclinical evaluation of a replication-deficient intranasal DeltaNS1 H5N1 influenza vaccine. *PLoS One*, 2009, vol. 4, no. 6: e.5984. doi: 10.1371/journal.pone.0005984
16. Ryan A.A., Nambiar J.K., Wozniak T.M., Roediger B., Shklovskaya E., Britton W.J., Fazekas de St Groth B., Triccas J.A. Antigen load governs the differential priming of CD8 T cells in response to the bacille Calmette Guerin vaccine or Mycobacterium tuberculosis infection. *J. Immunol.*, 2009, vol. 182, no. 11, pp. 7172–7177. doi: 10.4049/jimmunol.0801694
17. Xu Y., Yang E., Wang J., Li R., Li G., Liu G., Song N., Huang Q., Kong C., Wang H. Prime-boost bacillus Calmette–Guérin vaccination with lentivirus-vectored and DNA-based vaccines expressing antigens Ag85B and Rv3425 improves protective efficacy against Mycobacterium tuberculosis in mice. *Immunology*, 2014, vol. 143, no. 2, pp. 277–286. doi: 10.1111/imm.12308
18. Zhang M., Dong C., Xiong S. Heterologous boosting with recombinant VSV-846 in BCG-primed mice confers improved protection against Mycobacterium infection. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2017, vol. 13, no. 4, pp. 816–822. doi: 10.1080/21645515.2016.1261229

**Авторы:**

**Шурыгина А.-П.С.**, к.м.н., старший научный сотрудник, лаборатория векторных вакцин ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

**Заболотных Н.В.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник направления «Экспериментальный туберкулез и инновационные технологии» ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

**Виноградова Т.И.**, д.м.н., главный научный сотрудник, координатор направления «Экспериментальный туберкулез и инновационные технологии» ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

**Васильев К.А.**, научный сотрудник лаборатории векторных вакцин ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

**Бузицкая Ж.В.**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории векторных вакцин ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

**Стукова М.А.**, к.м.н., зав. лабораторией векторных вакцин НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Schurygina A.-P.S.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Vectored Vaccine, Smorodintsev Research Institute of Influenza Russian Ministry of Health, St. Petersburg, Russian Federation;

**Zabolotnykh N.V.**, PhD, MD (Medicine), Leading Researcher of the “Experimental Tuberculosis and Innovative Technologies” Direction, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology Russian Ministry of Health, St. Petersburg, Russian Federation;

**Vinogradova T.I.**, PhD, MD (Medicine), Head Researcher of the “Experimental Tuberculosis and Innovative Technologies” Direction, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology Russian Ministry of Health, St. Petersburg, Russian Federation;

**Vasiliev K.A.**, Researcher, Laboratory of Vectored Vaccine, Smorodintsev Research Institute of Influenza Russian Ministry of Health, St. Petersburg, Russian Federation;

**Buzitskaya Zh.V.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Vectored Vaccine, Smorodintsev Research Institute of Influenza Russian Ministry of Health, St. Petersburg, Russian Federation;

**Stukova M.A.**, PhD (Medicine), Head of the Laboratory of Vectored Vaccine, Smorodintsev Research Institute of Influenza Russian Ministry of Health, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 21.06.2019  
Отправлена на доработку 13.12.2019  
Принята к печати 11.03.2020

Received 21.06.2019  
Revision received 13.12.2019  
Accepted 11.03.2020

# ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Л.М. Куртасова<sup>1,2</sup>, Н.А. Шакина<sup>2</sup>, Т.В. Лубнина<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия

<sup>2</sup> КГАУЗ Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД, г. Красноярск, Россия

**Резюме.** Цель исследования: изучение активности и корреляционных связей НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови у детей раннего возраста с рецидивирующими респираторными инфекциями при гипертрофии глоточной миндалины и бронхообструктивном синдроме. *Методы.* Обследовано 89 детей в возрасте 1–3 лет с рецидивирующими респираторными инфекциями, из них 35 детей с гипертрофией глоточной миндалины (ГГМ) и 54 ребенка с бронхообструктивным синдромом (БОС). Контрольную группу составили 20 здоровых детей аналогичного возрастного диапазона. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови изучали билюминесцентным методом по А.А. Савченко и Л.М. Сунцовой (1989). *Результаты.* У детей раннего возраста с рецидивирующими респираторными инфекциями установлены изменения ферментного статуса лимфоцитов периферической крови. Выявлено повышение рибозо-5-фосфата и НАДФ-зависимых пластических процессов, увеличение субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, снижение анаэробной реакции лактатдегидрогеназы, что предполагает ингибирование терминальных стадий гликолиза, уменьшение роли малатаспартатного шунта в энергетике клетки, понижение оттока субстратов с реакций цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена и снижение уровня активности глутатионредуктазы. Обнаружены особенности перестройки ферментного профиля лимфоцитов периферической крови в зависимости от типа осложнения респираторной инфекции. У детей с гипертрофией глоточной миндалины наблюдалось увеличение переноса продуктов липидного катаболизма на гликолиз, повышенный уровень активности малик-фермента, шунтирующего реакции цикла трикарбоновых кислот и являющегося основным в ключевой реакции липидного анаболизма и снижение наработки пирувата. У детей с БОС отмечалось снижение уровня активности глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, приводящей к понижению субстратной стимуляции гликолиза за счет продуктов липидного катаболизма, уменьшение шунтирования медленных реакций цикла Кребса и увеличение притока интермедиатов аминокислотного обмена на окислительно-восстановительные реакции цикла трикарбоновых кислот. Перестройка ферментного профиля лимфоцитов крови зависела от типа осложнения респираторной инфекции (ЛОР-патология или БОС). Корреляционный анализ выявил особенности взаимосвязей между показателями активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови у детей с гипертрофией глоточной миндалины и БОС, определяемые количеством, направленностью и силой корреляционных связей. *Заключение.* Дети с рецидивирующими респираторными инфекциями нуждаются в метаболической терапии, направленной на восстановление внутриклеточных обменных процессов в иммуноцитах. Метаболическая коррекция должна быть дифференцированной.

**Ключевые слова:** респираторная инфекция, гипертрофия глоточной миндалины, бронхообструктивный синдром, лимфоцит, фермент, корреляция.

## Адрес для переписки:

Куртасова Людмила Михайловна  
660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1,  
Красноярский государственный медицинский университет  
В.Ф. Войно-Ясенецкого.  
Тел.: 8 (391) 220-13-95. Факс: 8 (391) 221-16-38.  
E-mail: kurtasova.lm@mail.ru

## Contacts:

Lyudmila M. Kurtasova  
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk, Partizana  
Zheleznyaka str., 1, Krasnoyarsk State Medical University  
named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky.  
Phone: +7 (391) 220-13-95. Fax: +7 (391) 221-16-38.  
E-mail: kurtasova.lm@mail.ru

## Библиографическое описание:

Куртасова Л.М., Шакина Н.А., Лубнина Т.В. Изменения метаболизма лимфоцитов крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 515–523. doi: 10.15789/2220-7619-MCI-803

## Citation:

Kurtasova L.M., Shakina N.A., Lubnina T.V. Metabolic changes in peripheral blood lymphocytes from children with recurrent respiratory infections // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 515–523. doi: 10.15789/2220-7619-MCI-803

© Куртасова Л.М., Шакина Н.А., Лубнина Т.В., 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-MCI-803>

## METABOLIC CHANGES IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES FROM CHILDREN WITH RECURRENT RESPIRATORY INFECTIONS

Kurtasova L.M.<sup>a,b</sup>, Shakina N.A.<sup>b</sup>, Lubnina T.V.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Krasnoyarsk State Medical University named after professor V.F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Krasnoyarsk Regional Center for Prevention and Control of AIDS, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Abstract.** Objective: to examine activity and correlative relations for peripheral blood lymphocyte NAD (P)-dependent dehydrogenases in young children with recurrent respiratory infections with hypertrophy of the pharyngeal tonsils and bronchial obstructive syndrome. *Methods.* 89 children, aged 1–3 years, with recurrent respiratory infections were examined, including 35 children with hypertrophy of pharyngeal tonsils (HPT) and 54 children — with bronchial obstructive syndrome (BOS). Control group contained 20 age-matched healthy children. Activity and relations for peripheral blood lymphocyte for NAD(P)-dependent dehydrogenases were assessed by using bioluminescent method proposed by A.A. Savchenko and L.N. Suntsova (1989). *Results.* It was found that children with recurrent respiratory infections displayed altered enzyme status in peripheral blood lymphocytes. In particular, activity ribose-5-phosphate- and NAD(P)-dependent metabolic events as well as substrate flux via the tricarboxylic acid cycle were elevated that was paralleled with decreased lactate dehydrogenase anaerobic reaction, thereby implicating a role for malate-aspartate shunt in the energy turnover, substrate efflux from the tricarboxylic acid cycle into amino acid metabolic pathways as well as activity of glutathione reductase. Moreover, features of altered enzymatic profile in peripheral blood lymphocytes were uncovered, which depended on type of complication related to respiratory infection. In addition, children with hypertrophy of pharyngeal tonsils were featured with increased influx of lipid catabolism products into glycolysis, elevated level of malic enzyme activity and decreased pyruvate production. However, children with bronchial obstructive syndrome were found to have decreased glycerol-3-phosphate dehydrogenase activity resulting in lowered shunting activity of slow reactions in Krebs cycle and increased influx of amino acid metabolism intermediates into the tricarboxylic acid cycle. Reshaping of enzymatic profile in peripheral blood lymphocytes depended on type of complications coupled to respiratory infections (ENT-pathology or BOS syndrome). A correlation analysis revealed features of relationship between parameters of NAD(P)-dependent dehydrogenase activity in peripheral blood lymphocytes found in children with hypertrophy of pharyngeal tonsils and bronchial obstructive syndrome marked by quantity, modality and power of correlative links. *Conclusion.* Children with the recurrent respiratory infections require metabolic therapy aimed at restoring intracellular pathology-driven metabolic processes in immune cells.

**Key words:** respiratory infection, hypertrophy of the pharyngeal tonsil, broncho-obstructive syndrome, lymphocyte, enzyme, correlation.

## Введение

Респираторные вирусные инфекции являются наиболее частыми заболеваниями, которые занимают ведущее место в структуре инфекционных болезней и составляют до 80% от всех случаев инфекционной патологии у детей. При этом более уязвимой группой являются дети раннего возраста [4, 6, 11].

Специфическая иммунная защита дыхательных путей включает, в первую очередь, глоточное лимфоидное кольцо и ассоциированную с бронхами лимфоидную ткань, в которых происходит первый контакт с антигеном.

Глоточная миндалина, входящая в состав лимфоэпителиального кольца Вальдейера, занимает важное место в онтогенетическом становлении иммунной системы ребенка [2, 4]. Ведущую роль в возникновении воспаления глоточной миндалины у детей играет высокая нагрузка вирусными антигенами. Практически каждый ребенок раннего возраста с часто рецидивирующими респираторными инфекциями имеет клинические проявления хронического аденоидита [3, 8].

В настоящее время наблюдается тенденция к росту числа детей, у которых респираторные

вирусные инфекции сопровождаются бронхо-обструктивным синдромом (БОС). В то же время у детей, которые часто (более 6 раз в году) болеют респираторными инфекциями, БОС регистрируется чаще [1, 13].

На сегодняшний день не требуется особых доказательств того факта, что в обеспечении гомеостатических реакций организма, его адаптивных возможностей одно из первых мест занимает иммунная система.

При этом более ранние признаки изменений иммунной системы следует, очевидно, искать на уровне клетки, где начинается формирование иммунного ответа. В то же время проявление функциональных возможностей любой клетки, в том числе лимфоцита — основного структурно-функционального элемента иммунной системы — в значительной степени определяется внутриклеточным метаболизмом.

Известно, что лимфоциты снабжены рецепторами, воспринимающими нейромедиаторы, гормоны, регуляторные пептиды [12]. Поскольку лимфоциты несут рецепторы к подавляющему большинству регуляторных веществ, их метаболические реакции могут в определенной степени отражать общие тенденции обменных процессов в организме. В связи с чем Р.П. Нарциссов

и назвал лимфоциты «ферментативным зеркалом организма» [7].

К числу наиболее информативно отражающих основные параметры внутриклеточного метаболизма лимфоцитов относятся окислительно-восстановительные ферменты (дегидрогеназы). Это класс ферментов, катализирующих реакции окисления — восстановления, локализующихся в разных компартментах клетки и участвующих в различных метаболических путях [10].

Необходимо отметить, что именно у детей раннего возраста можно ожидать наиболее значимые метаболические изменения в клетке, связанные с бурными темпами процессов роста, дифференцировки, с одной стороны, и быстротой возникновения обменных нарушений на клеточном уровне вследствие воздействия патогенных факторов, с другой.

Учитывая вышеизложенное, целью исследования явилось изучение активности и корреляционных связей НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови при гипертрофии глоточной миндалины (ГГМ) и БОС у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями.

## Материалы и методы

Проведено открытое клиническое исследование. Обследовано 89 детей в возрасте от одного года до трех лет с рецидивирующими респираторными инфекциями, из них 35 детей с ГГМ II–III степени и 54 ребенка с БОС. Частота респираторных инфекций составляла 6 раз и более в году. Диагноз ГГМ был установлен на основании жалоб, клинической (затруднение носового дыхания, дыхание через рот, отделяемое из носа, храп в ночное время) и эндоскопической (наличие аденоидных вегетаций II–III степени в полости носоглотки) картины. Бронхообструктивный синдром клинически проявлялся симптомокомплексом, характеризующимся приступообразным кашлем, экспираторной одышкой и приступами удушья. Критерием включения детей в исследование являлось отсутствие терапии в течение месяца, предшествующего обследованию. У всех обследованных детей получено согласие родителей на включение в исследование и обработку персональных данных.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых детей аналогичного возрастного диапазона.

Исследования проводили на базе Красноярского краевого центра профилактики и борьбы со СПИД.

Выделение мононуклеаров производили центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина ( $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ )

по методу А. Воуим [15]. В дальнейшем 1 млн выделенных клеток замораживали в микропробирках и использовали для определения НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов биOLUMиНесцентным методом [9]. Изучали показатели следующих оксидоредуктаз: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ, КФ 1.1.1.8), малик-фермента (НАДФМДГ, 1.1.1.40), НАД<sup>+</sup>- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (НАДЛДГ и НАДНЛДГ, КФ 1.1.1.27), НАД<sup>+</sup>- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (НАДМДГ и НАДНМДГ, КФ 1.1.1.37), НАДФ<sup>+</sup>- и НАДФН-зависимой реакции глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФНГДГ, КФ 1.4.1.4), НАД<sup>+</sup>- и НАДН-зависимой реакции глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДНГДГ, КФ 1.4.1.2), НАД<sup>+</sup>- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ, КФ 1.1.1.41 и НАДФИЦДГ, КФ 1.1.1.42) и глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2). Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах на  $10^4$  клеток, где  $1\text{Е} = 1 \text{ мкмоль/мин}$ . Исследование проводили на ферментативной системе НАД(Ф)Н:ФМН оксидоредуктаза-люцифераза, изготовленной из очищенных методами ионообменной хроматографии и гель-фильтрации люциферазы из *Photobacterium leiognathi* и оксидоредуктазы из *Vibrio fischeri*. После смешивания биOLUMиНесцентных реактивов и инкубационной пробы производили измерение свечения с помощью биOLUMиНОметра «БЛМ-8801» (Россия).

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью пакета прикладных программ «Statistica v. 6.0» (Stat Soft, Ins., США).

Вид распределения количественных признаков определялся с помощью критерия Колмогорова–Смирнова (с поправкой Лиллиефорса). Учитывая нормальное распределение признаков, результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде  $M$  — средней арифметической величины и ошибки средней арифметической ( $m$ ). Оценка статистической значимости различий средних величин проводилась с использованием параметрического  $t$ -критерия Стьюдента. Проведена ранговая корреляция с использованием параметрического критерия Пирсона ( $r$ ). Критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

## Результаты

Анализ показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у детей с рецидивирующими

ми респираторными инфекциями выявил повышение Г6ФДГ в 6,6 раза ( $p < 0,001$ ) в группе детей с ГГМ и в 5,2 раза ( $p < 0,001$ ) в группе детей с БОС по сравнению с величинами контрольной группы. Однонаправленно в сторону увеличения относительно контрольных показателей в наблюдаемых группах детей изменялись показатели активности дегидрогеназ митохондриального компартмента — НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ и НАДМДГ (табл. 1, 2). Следует отметить статистически значимое снижение уровней активности НАДНЛДГ и НАДНМДГ в лимфоцитах крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями по сравнению с параметрами группы контроля (табл. 1, 2). В то же время в группе детей с БОС эти показате-

тели были более низкими, чем в группе детей с ГГМ. Так, показатели НАДНЛДГ в группе детей с ГГМ оказались в 2,7 раза ( $p < 0,001$ ), а показатели НАДНМДГ — в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ) ниже, чем в контрольной группе; у детей с БОС — в 18,4 раза ( $p < 0,001$ ) и в 13,2 раза ( $p < 0,001$ ) соответственно.

Показатели активности ГР в лимфоцитах периферической крови в группе детей с ГГМ статистически значимо были ниже величин контрольной группы, в группе детей с БОС уровни активности данного фермента имели лишь тенденцию к понижению (табл. 1, 2).

Для ферментного статуса лимфоцитов периферической крови в группе детей с ГГМ было характерно увеличение показателей активности

**Таблица 1. Показатели активности (мкЕ) НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у детей с гипертрофией глоточной миндалины ( $M \pm m$ )**

Table 1. Indicators of activity (мкЕ) NAD (P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes in children with hypertrophy of the pharyngeal tonsil ( $M \pm m$ )

Показатель Indicator	Контрольная группа (n = 20) Control group (n = 20)	Группа с ГГМ (n = 35) Group with GGM (n = 35)	p
Г6ФДГ G6PDH	2,09±0,16	13,86±0,88	0,001
Г3ФДГ G3PDH	2,56±0,19	4,06±0,22	0,05
НАДЛДГ NADLDH	41,73±4,07	18,80±1,42	0,001
НАДМДГ NADMMDH	20,14±1,26	26,88±1,94	0,01
НАДФМДГ NADPMDH	5,16±0,47	7,56±0,42	0,01
НАДФГДГ NADPGDH	1,92±0,16	0,05±0,002	0,001
НАДГДГ NADGDH	6,22±0,51	6,87±0,85	0,001
НАДИЦДГ NADIDH	1,25±0,10	4,17±0,10	0,001
НАДФИЦДГ NADPIDH	10,22±1,04	16,04±1,78	0,01
НАДНЛДГ R-LDH	66,2±6,41	24,75±1,81	0,001
НАДНМДГ R-MDH	123,04±9,47	57,36±5,92	0,001
ГР GR	12,37±1,23	9,39±0,93	0,1 > p > 0,05
НАДНГДГ R-NADGDH	174,52±14,29	17,41±1,67	0,001
НАДФНГДГ R-NADPGDH	151,94±11,68	44,78±4,30	0,001

**Примечание.** p — статистически значимые различия с контрольной группой.

Note. p — statistically significant differences with the control group.

**Таблица 2. Показатели активности (мкЕ) НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у детей с бронхообструктивным синдромом ( $M \pm m$ )**

Table 2. Indicators of activity (мкЕ) NAD (P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes in group of children with broncho-obstructive syndrome ( $M \pm m$ )

Показатель Indicator	Контрольная группа (n = 20) Control group (n = 20)	Группа с БОС (n = 54) Group with BOS (n = 54)	p
Г6ФДГ G6PDH	2,09±0,16	10,83±1,14	0,001
Г3ФДГ G3PDH	2,56±0,19	0,44±0,004	0,001
НАДЛДГ NADLDH	41,73±4,07	46,43±4,19	
НАДМДГ NADMMDH	20,14±1,26	34,52±3,64	0,001
НАДФМДГ NADPMDH	5,16±0,47	0,85±0,03	0,001
НАДФГДГ NADPGDH	1,92±0,16	1,86±0,11	0,001
НАДГДГ NADGDH	6,22±0,51	9,09±0,22	0,001
НАДИЦДГ NADIDH	1,25±0,10	18,29±0,34	0,001
НАДФИЦДГ NADPIDH	10,22±1,04	16,72±1,74	0,002
НАДНЛДГ R-LDH	66,2±6,41	3,60±0,27	0,001
НАДНМДГ R-MDH	123,04±9,47	9,34±0,87	0,001
ГР GR	12,37±1,23	1,71±0,15	0,001
НАДНГДГ R-NADGDH	174,52±14,29	4,73±0,64	0,001
НАДФНГДГ R-NADPGDH	151,94±11,68	35,96±3,62	0,001

**Примечание.** p — статистически значимые различия с контрольной группой.

Note. p — statistically significant differences with the control group.

ГЗФДГ и НАДФМДГ, в группе детей с БОС наблюдалось статистически значимое снижение показателей активности данных энзимов (табл. 1, 2).

Кроме того, только в группе детей с ГГМ в лимфоцитах крови статистически значимо по сравнению с показателями контроля снижалась активность аэробной реакции ЛДГ (табл. 1). Исследование активности глутаматдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями выявило снижение относительно параметров контрольной группы показателей активности обратных реакций НАДГДГ и НАДФГДГ как в группе детей с ГГМ, так и в группе с БОС (табл. 1, 2), повышение показателей активности НАДГДГ в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ) в группе детей с БОС и понижение в 38,4 раза ( $p < 0,001$ ) активности НАДФГДГ в группе детей с ГГМ.

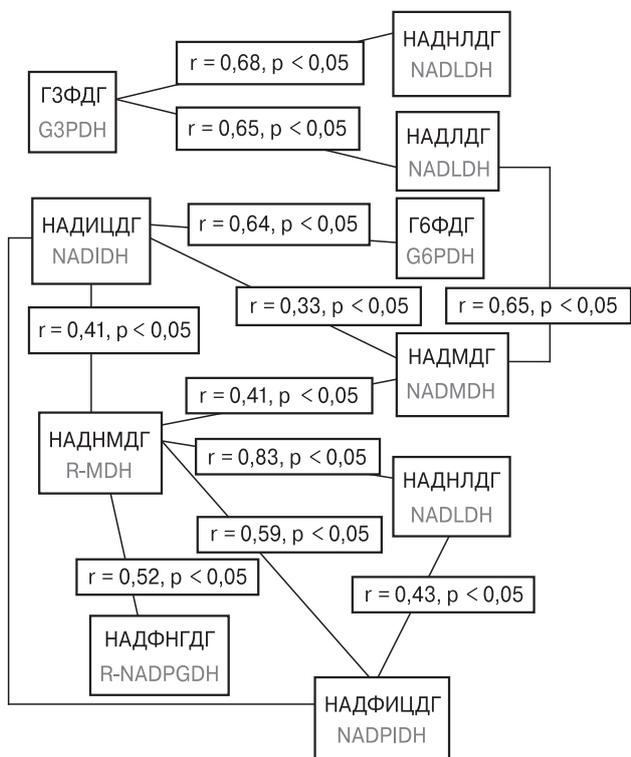
При оценке результатов корреляционного анализа наибольшее количество связей между показателями активности исследуемых ферментов в лимфоцитах периферической крови было установлено в группе детей с ГГМ (рис. 2) по сравнению с контрольной группой (рис. 1) и группой детей с БОС (рис. 3).

В группе детей с БОС достоверных коэффициентов корреляции между показателями

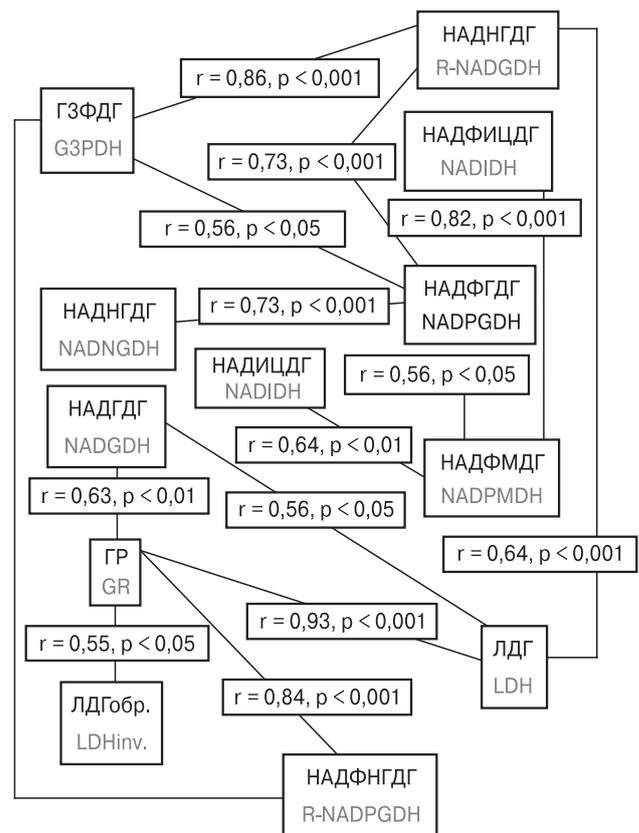
активности ферментов лимфоцитов крови значительно меньше — всего 5 против 13 в группе детей с ГГМ и против 11 в контрольной группе, однако все они имели высокие коэффициенты корреляции (рис. 3).

Детальный анализ полученных данных показал, что в контрольной группе преобладали корреляционные связи средней силы (54,5%), сильные и слабые связи составляли 18,2 и 27,3% соответственно. В группе детей с ГГМ, также как и в контрольной группе, большинство корреляционных связей оказались средней силы (61,5%), в то же время отсутствовали слабые по силе корреляционные связи, сильные корреляционные связи составляли 38,5%. В группе детей с БОС между показателями активности ферментов лимфоцитов периферической крови наблюдались только сильные корреляционные связи (100%).

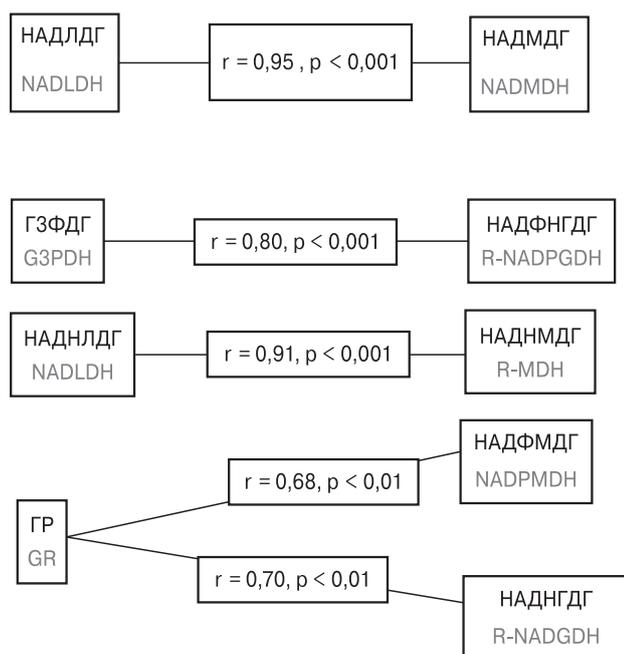
У детей с рецидивирующими респираторными инфекциями выявлены особенности характера взаимосвязей показателей активности метаболических ферментов лимфоцитов периферической крови.



**Рисунок 1. Корреляционные связи показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови в контрольной группе**  
 Figure 1. Correlations of activity NAD(P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes indicators in control group



**Рисунок 2. Корреляционные связи показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови в группе детей с гипертрофией глоточной миндалины**  
 Figure 2. Correlations of activity NAD(P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes indicators in group of children with hypertrophy of the pharyngeal tonsil



**Рисунок 3. Корреляционные связи показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови в группе детей с бронхообструктивным синдромом**

Figure 3. Correlations of activity NAD(P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes indicators in group of children with broncho-obstructive syndrome

Так, у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями обнаружены взаимосвязи ГР, НАДФМДГ, НАДНГДГ между собой и с другими исследуемыми нами ферментами, в то время как в контрольной группе данные энзимы полностью «выпадали» из системы корреляционных связей (рис. 1–3). В качестве различий следует указать утрату у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями корреляционных связей показателей активности Г6ФДГ. При этом в контрольной группе наблюдалась прямая корреляционная зависимость показателей активности Г6ФДГ с НАДИЦДГ ( $r = 0,64, p < 0,05$ ).

Необходимо отметить, что корреляционная картина в группе детей с ГГМ отличается появлением многочисленных и разнообразных связей у глутаматдегидрогеназ и глутатионредуктазы (рис. 2) по сравнению с контрольной группой детей (рис. 1) и группой детей с БОС (рис. 3).

## Обсуждение

При изучении состояния ферментного статуса лимфоцитов периферической крови у детей с ГГМ и с БОС выявлены изменения уровней активности исследуемых нами оксидоредуктаз. Так, обнаружено повышение активности Г6ФДГ, которая является иницирующим фер-

ментом пентозофосфатного пути (ПФП) и участвует в перераспределении части глюкозы с энергетических нужд клетки на пластические. В результате деятельности ферментов ПФП, в том числе Г6ФДГ, в больших количествах образуется НАДФН, необходимый для реакций биосинтеза липидов и для регенерации восстановленного глутатиона — важного эндогенного антиоксиданта. Кроме того, одним из продуктов ПФП является рибозо-5-фосфат [10, 20, 23, 24]. Следовательно, активация работы ПФП может увеличить способность клетки к синтезу нуклеотидов. В то же время увеличение интенсивности работы ПФП, несомненно, будет способствовать снижению в клетке количества глюкозы, доступной для использования в реакциях энергетического обмена. Таким образом, при повышенном оттоке глюкозо-6-фосфата в ПФП уровень реакций гликолиза будет снижен. Об этом свидетельствует установленное нами в лимфоцитах крови уменьшение активности анаэробной реакции ЛДГ, в ходе которой регенерируется НАД<sup>+</sup>, необходимый для циклической гликолитической оксидоредуктации. Возникающий недостаток цитозольного НАД<sup>+</sup> может быть частично компенсирован активацией малат-аспартатного челночного механизма, в частности повышением уровня НАДНМДГ [5, 14]. При этом, в лимфоцитах периферической крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями обнаружено снижение активности НАДНМДГ.

Лимфоциты являются клетками, где энергетические реакции определяются интенсивностью как анаэробных, так и аэробных процессов. Следует отметить, что цикл трикарбоновых кислот не только определяет интенсивность дыхательной цепи митохондрий (за счет наработки необходимых интермедиатов), но и является связующим звеном между белковым, углеводным и липидным обменами [10]. Состояние внутримитохондриальных процессов в лимфоцитах крови у наблюдаемых нами детей с рецидивирующими респираторными инфекциями характеризуется повышением активности НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ и НАДМДГ, что отражает увеличение субстратного потока как на начальных, так и терминальных стадиях цикла Кребса. В то же время в лимфоцитах периферической крови наблюдается снижение активности НАДНГДГ и НАДФНГДГ. По-видимому, высокая интенсивность работы дыхательной цепи и НАД-зависимых дегидрогеназ цикла трикарбоновых кислот ограничивают возможность использования НАДНГДГ и НАДФНГДГ для стимуляции реакций аминокислотного обмена.

Известно, что глутатионредуктаза в глутатион-зависимой антиоксидантной системе осуществляет реакцию восстановления окислен-

ного глутатиона, а также в определенной степени модулирует пролиферативную активность лимфоцитов [17, 21].

Понижение активности ГР в лимфоцитах периферической крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями может привести к повышению интенсивности перекисных процессов в клетке и к снижению пролиферативной способности лимфоцитов.

Сравнительный анализ показал повышение активности ГЗФДГ в лимфоцитах периферической крови у детей с ГГМ, катализирующей ферментативную реакцию, которая может компенсировать отток субстратов с гликолиза. В результате увеличения активности ГЗФДГ повышается эффективность энергетического обмена и интенсивность работы глицерофосфатного челночного механизма, вследствие чего возрастает поток протонов от НАДН из цитоплазмы в митохондриальный компартмент клетки [5, 10, 16]. При этом активность ГЗФДГ, которая осуществляет перенос продуктов липидного катаболизма на реакции анаэробного окисления глюкозы в лимфоцитах периферической крови в группе детей с БОС значительно снижена. Также направленно в наблюдаемых нами группах детей в лимфоцитах периферической крови изменяется уровень активности НАДФМДГ. НАДФМДГ является ключевым ферментом в системе липидного анаболизма — через восстановление НАДФ<sup>+</sup> принимает участие в реакциях катаболизма ксенобиотиков и осуществляет шунтирование медленных реакций цикла трикарбоновых кислот [18, 25]. Снижение активности НАДФМДГ в лимфоцитах крови у детей с БОС может привести к недостаточному образованию восстановительной формы цитоплазматического НАДФН и недостатку субстратов для биосинтеза жирных кислот, а это может способствовать снижению реакций липидного обмена в клетке. В связи с чем ингибирование ГЗФДГ в группе детей с БОС может быть связано с понижением реакций липидного анаболизма.

В то же время увеличение в лимфоцитах периферической крови активности малик-фермента (НАДФМДГ) в группе детей с ГГМ отражает активацию шунтирования медленных участков лимонного цикла и повышение использования липидов и жирных кислот в клеточном метаболизме.

Следует отметить понижение активности НАДФГДГ, одной из вспомогательных дегидрогеназ, подающих на цикл трикарбоновых кислот субстраты с аминокислотного обмена [19, 22], в лимфоцитах периферической крови у детей с ГГМ.

Кроме того, снижение активности аэробной реакции ЛДГ в лимфоцитах крови в данной группе детей отражает более полное потребление наработанного клеткой пирувата.

Повышение активности НАДФГДГ в лимфоцитах крови у детей с БОС свидетельствует о субстратной стимуляции цикла Кребса продуктами реакций аминокислотного обмена.

Корреляционный анализ выявил у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями в лимфоцитах периферической крови связи между показателями ферментативной активности как в одном компартменте клетки, так и разных метаболических путей. При этом наибольшее количество корреляционных связей наблюдалось в группе детей с ГГМ. Увеличение количества корреляционных связей между показателями активности внутриклеточных ферментов связывают с напряжением регуляторных систем, увеличивающих взаимозависимость между различными метаболическими путями и тем самым обеспечивающих более экономное расходование метаболитов [10].

В группе детей с БОС наблюдалось минимальное количество корреляционных связей между ферментными показателями. В то же время необходимо отметить, что все они были высокой прочностью. Уменьшение числа связей обеспечивает необходимый уровень «функциональной свободы» и возможность перестройки внутриклеточного обмена [7, 10].

Таким образом, резюмируя полученные результаты, можно констатировать, что у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями отмечается перестройка ферментного профиля лимфоцитов периферической крови, а также изменение силы и структуры корреляционных связей между показателями, отражающими особенности внутриклеточного метаболизма.

## Заключение

Результаты проведенных исследований выявили изменения ферментного статуса лимфоцитов у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями. Учитывая высокую значимость метаболических реакций для функциональных возможностей клетки, сохранение метаболических изменений в лимфоцитах периферической крови в период клинической ремиссии, может являться одной из причин, способствующих рецидивирующему течению респираторных инфекций у детей, и диктует необходимость проведения метаболической терапии, направленной на восстановление внутриклеточных обменных процессов в иммунocyтах. Выявленные особенности ферментного профиля лимфоцитов периферической крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями от осложненного варианта заболевания — ЛОР-патология или БОС — свидетельствуют, что метаболическая коррекция несомненно должна быть дифференцированной.

## Список литературы/References

1. Бабушкина А.В. Острые респираторные вирусные заболевания и бронхообструктивный синдром // Украинский медицинский журнал, 2011. Т. 81, № 1. С. 69–74. [Babushkina A.V. Acute respiratory viral diseases and broncho-obstructive syndrome. *Ukrainskiy meditsinskiy zhurnal = Ukrainian Medical Journal*, 2011, vol. 81, no. 1, pp. 69–74. (In Russ.)]
2. Бениова С.Н., Таранова С.В., Бабко С.В. Клинико-иммунологические особенности хронических заболеваний назально-ассоциированной лимфоидной ткани у детей // Вестник оториноларингологии, 2014. № 4. С. 36–38. [Beniova S.N., Taranova S.V., Babko S.V. Specific clinical and immunological features of chronic diseases of the nasal-associated lymphoid tissue in the children. *Vestnik otorinolaringologii = Herald of Otorhinolaryngology*, 2014, no. 4, pp. 36–38. (In Russ.)]
3. Бешапочный С.Б., Гасюк Ю.А., Лобурец В.В., Вахтина А.Б. Мезанизмы местной защиты слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух // Вестник оториноларингологии. 2013. № 4. С. 44–47. [Beshapochny S.B., Gasyuk Y.A., Loburetz V.V., Vakhtina A.B. Mechanisms of local protection of the mucous membrane of the nasal cavity and paranasal sinuses. *Vestnik otorinolaringologii = Herald of Otorhinolaryngology*, 2013, no. 4, pp. 44–47. (In Russ.)]
4. Борисенко Г.Н., Носуля Е.В., Никулин И.В. Клинико-эпидемиологические аспекты заболеваний верхних дыхательных путей у детей с рецидивирующей респираторной инфекцией // Российская ринология. 2014. Т. 22, № 4. С. 38–42. [Borisenko G.N., Nosulya E.V., Nikulin I.V. Upper respiratory tract diseases in children with recurrent respiratory infection: Clinical and epidemiological aspects. *Rossiyskaya rinologiya = Russian Rhinology*, 2014, vol. 22, no. 4, pp. 38–42. (In Russ.)]
5. Инжеваткин Е.В., Савченко А.А., Слепов Е.В., Хлебопрос Р.Г. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов мышей после введения  $1 \cdot 10^4$  клеток асцитной карциномы Эрлиха // Сибирское медицинское обозрение. 2014. № 1. С. 25–30. [Inzhevatin E.V., Savchenko A.A., Slepov E.V., Khlebopros R.G. Activity of NAD(P)-dependent mice dehydrogenases lymphocyte after inject  $1 \cdot 10^4$  Ehrlich ascites tumor cells. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review*, 2014, no. 1, pp. 25–30. (In Russ.)]
6. Карпова Л.С., Смородинцева Е.А., Сысоева Т.И., Столярова Т.П., Поповцева Н.М., Столяров К.А., Даниленко Д.М., Цыбалова Л.М. Распространенность Р.С.-вирусной инфекции и других ОРВИ не гриппозной этиологии у детей и взрослых в регионах России в 2014–2016 годах // Эпидемиология. Вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17, № 2. С. 16–26. [Karpova L.S., Smorodintseva E.A., Sysoeva T.I., Stolyarova T.P., Popovtseva N.M., Stolyarov K.A., Danilenko D.M., Tsybalova L.M. The spread of RS-virus infection and other ARVI not influenza etiology in children and adults in the regions of Russia from 2014 to 2016. *Epidemiologiya. Vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2018, vol. 17, no. 2, pp. 16–26. (In Russ.)]
7. Нарциссов Р.П. Прогностические возможности клинической цитохимии // Советская педиатрия. Вып. 2. М.: Медицина, 1984. С. 267–275. [Narcissov R.P. Prognostic possibilities of clinical cytochemistry. In: *Soviet Pediatrics*. No. 2. Moscow: Medicine, 1984, pp. 267–275. (In Russ.)]
8. Очиллов Р.Т. Современные данные о проблеме лимфоэпителиального глоточного кольца // Российская оториноларингология. 2014. № 1. С. 169–171. [Ochilov R.T. New data on the problem lymphoepithelial pharyngeal ring. *Rossiyskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*, 2014, no. 1, pp. 169–171. (In Russ.)]
9. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высококчувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биolumинесцентным методом // Лабораторное дело. 1989. № 11. С. 23–25. [Savchenko A.A., Suntsova L.N. Highly sensitive determination of the dehydrogenase activity in peripheral blood lymphocytes using a bioluminescent method. *Laboratornoe delo = Laboratory Medicine*, 1989, no. 11, pp. 23–25. (In Russ.)]
10. Савченко А.А., Борисов А.Г. Основы клинической иммунометаболической. Новосибирск: Наука, 2012. 263 с. [Savchenko A.A., Borisov A.G. Basis of the clinical immunometabolism. *Novosibirsk: Science*, 2012, 263 p. (In Russ.)]
11. Самсыгина Г.А. Современное лечение острых респираторных заболеваний у детей // Педиатрия. 2013. Т. 92, № 3. С. 38–42. [Samsigina G.A. Modern treatment of acute respiratory diseases in children. *Pediatriya = Pediatrics*, 2013, vol. 92, no. 3, pp. 38–42. (In Russ.)]
12. Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Филатенкова Т.А., Серебряная Н.Б. Коррекция нарушений нейроиммунных взаимодействий при экспериментальной черепно-мозговой травме препаратом рекомбинантного интерлейкина-2 // Медицинская иммунология. 2018. Т. 20, № 2. С. 171–178. [Shanin S.N., Fomicheva E.E., Filatenkova T.A., Serebryanaya N.B. Correction disturbed neuroimmune interactions in experimental traumatic brain injury by means of recombinant interleukin 2. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, vol. 20, no. 2, pp. 171–178. doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-171-178 (In Russ.)]
13. Швец Е.А., Савватеева В.Г., Васильева Г.И. Клинико-иммунологические характеристики при синдроме бронхиальной обструкции у детей // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2010. Т. 93, № 2. С. 8–11. [Shvets E., Savvateeva V., Vasilieva G.I. Clinico-immunological characteristics in children with bronchial obstruction. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk)*, 2010, vol. 93, no. 2, pp. 8–11. (In Russ.)]
14. Abbrescia D.I., La Piana G., Lofrumento N.E. Malate-aspartate shuttle and exogenous NADH/cytochrome electron transport pathway as two independent cytosolic reducing equivalent transfer systems. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2012, vol. 518, no. 2, pp. 157–163.
15. Boyum A. Isolation of lymphocytes from blood and marrow. *Scand. Clin. Lab. Invest.*, 1968, vol. 21, no. 97, pp. 77–80.
16. DeLa Roche M., Tessier S.N., Storey K.B. Structural and functional properties of glycerol-3-phosphate dehydrogenase from a mammalian hibernator. *Protein J.*, 2012, vol. 31, no. 2, pp. 109–119. doi: 10.1089/thy.2011.0173
17. Diukic M.M., Jovanovic M.D., Ninkovic M., Stevanovic I., Ilic K., Curcic M., Vekic J. Protective role of glutathione reductase in paraquat induced neurotoxicity. *Chem. Biol. Interact.*, 2012, vol. 199, no. 2, pp. 74–86. doi: 10.1016/j.cbi.2012.05.008
18. Hsieh J.Y., Chen S.H., Hung H.C. Functional roles of the tetramer organization of malic enzyme. *J. Biol. Chem.*, 2009, vol. 284, no. 27, pp. 18096–18105. doi: 10.1074/jbc.M109.005082
19. Li M., Li C., Allen A., Stanley C.A., Smith T.J. The structure and allosteric regulation of mammalian glutamate dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2012, vol. 519, no. 2, pp. 69–80. doi: 10.1016/j.abb.2011.10.015

20. Norris M.G., Malys N. What is the true enzyme kinetics in the biological system? An investigation of macromolecular crowding effect upon enzyme kinetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011, vol. 405, no. 3, pp. 388–392. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.01.037
21. Pallardo F.V., Markovic J., Garcia-Gimener J.L., Vina J. Role of nuclear glutathione as a key regulator of cell proliferation. *Mol. Aspects. Med.*, 2009, vol. 30, no. 1, pp. 77–85.
22. Spanaki C., Plaitakis A. The role of glutamate dehydrogenase in mammalian ammonia metabolism. *Neurotox. Res.*, 2012, vol. 21, no. 1, pp. 117–127. doi: 10.1007/s12640-011-9285-4
23. Stanton R.S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. *IUBMB Life*, 2012, vol. 64, no. 5, pp. 362–369. doi: 10.1002/iub.1017
24. Tandogan B., Sengezer C., Ulusu N.N. In vitro effects of imatinib on glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione reductase. *Folia Biol. (Praha)*, 2011, vol. 57, no. 2, pp. 57–64.
25. Wang B., Wang P., Zheng E., Chen X., Zhao H., Song P., Su R., Li X., Zhu G. Biochemical properties and physiological roles of NADP-dependent malic enzyme in *Escherichia coli*. *J. Microbiol.*, 2011, vol. 49, no. 5, pp. 797–802. doi: 10.1007/s12275-011-0487-5

---

**Авторы:**

**Куртасова Л.М.**, д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия; врач аллерголог-иммунолог КГАУЗ Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД, г. Красноярск, Россия;  
**Шакина Н.А.**, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики отделения иммунологических и гематологических исследований КГАУЗ Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД, г. Красноярск, Россия;  
**Лубнина Т.В.**, врач-педиатр лечебно-консультативного отделения КГАУЗ Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД, 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. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation; Allergologist-Immunologist, Krasnoyarsk Regional Center for AIDS Prevention and Control, Krasnoyarsk, Russian Federation;  
**Shakina N.A.**, PhD (Medicine), Pathologist, Laboratory of Immunological and Haematological Research, Krasnoyarsk Regional Center for AIDS Prevention and Control, Krasnoyarsk, Russian Federation;  
**Lubnina T.V.**, Pediatrician, Medical Advisory Department, Regional Center for AIDS Prevention and Control, Krasnoyarsk, Russian Federation.

---

Поступила в редакцию 20.11.2018  
Отправлена на доработку 20.05.2019  
Принята к печати 26.11.2019

Received 20.11.2018  
Revision received 20.05.2019  
Accepted 26.11.2019

# ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА D И ИНТЕРФЕРОНА $\alpha$ -2b НА ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС БЕРЕМЕННЫХ С ВАГИНАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

М.П. Костинов<sup>1,2</sup>, М.А. Игнатьева<sup>3</sup>, С.В. Новикова<sup>3</sup>, А.Д. Шмитко<sup>1</sup>,  
В.Б. Полищук<sup>1</sup>, Н.К. Ахматова<sup>1</sup>, А.А. Сависко<sup>4</sup>, А.М. Костинов<sup>5</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

<sup>3</sup> ГБУЗ МО Московский областной НИИ акушерства и гинекологии, Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

<sup>5</sup> ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

**Резюме.** Проведено исследование по оценке эффективности влияния препаратов витамина D и интерферона  $\alpha$ -2b на цитокиновый статус беременных с вагинальными инфекциями. Показано, что у беременных с бактериальным вагинозом в 53,8–60,5% случаев встречался низкий уровень витамина D по сравнению с женщинами без вагинальных инфекций. Назначение витамина D и интерферона  $\alpha$ -2b в комплексе с антибактериальной терапией у беременных с бактериальным вагинозом оказывало противовоспалительное действие, приводя к нормализации IL-8 до уровня здоровых лиц. Прием витамина D приводил к изменению интерфероновому статусу и усилению антимикробной функции у беременных, что подтверждалось снижением количества эпизодов ОРИ.

**Ключевые слова:** беременные, витамин D, вагинальные инфекции, цитокины, интерфероны.

## EFFECT OF VITAMIN D AND INTERFERON $\alpha$ -2b ON CYTOKINE PROFILE IN PREGNANT WOMEN WITH VAGINAL INFECTIONS

Kostinov M.P.<sup>a,b</sup>, Ignatieva M.A.<sup>c</sup>, Novikova S.V.<sup>c</sup>, Shmitko A.D.<sup>a</sup>, Polischuk V.B.<sup>a</sup>, Akhmatova N.K.<sup>a</sup>, Savisko A.A.<sup>d</sup>, Kostinov A.M.<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Scientific Research Institute of Vaccines and Sera named after I.I. Mechnikov, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Healthcare of Russia, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>d</sup> Rostov State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

<sup>e</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** A study was conducted to evaluate effectiveness of vitamin D and interferon  $\alpha$ -2b preparations on cytokine profile in pregnant women with vaginal infections. It was shown that pregnant women with vs. without bacterial vaginosis were featured with low vitamin D level in 53.8–60.5% cases. Administration of vitamin D and interferon  $\alpha$ -2b preparations in combination with antibacterial therapy in pregnant women with bacterial vaginosis conferred anti-inflammatory effect resulting in normalized IL-8 level corresponding to that one in healthy subjects. Use of vitamin D altered interferon status and augmented antimicrobial activity in pregnant women confirmed by reduced rate of ARI episodes.

**Key words:** pregnant women, vitamin D, vaginal infections, cytokines, interferons.

### Адрес для переписки:

Костинов Михаил Петрович  
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5А,  
ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.  
Тел.: 8 (495) 917-41-49.  
E-mail: monolit.96@mail.ru

### Contacts:

Mikhail P. Kostinov  
105064, Russian Federation, Moscow, Malyy Kazenny lane, 5A,  
I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera.  
Phone: +7 (495) 917-41-49.  
E-mail: monolit.96@mail.ru

### Библиографическое описание:

Костинов М.П., Игнатьева М.А., Новикова С.В., Шмитко А.Д., Полищук В.Б., Ахматова Н.К., Сависко А.А., Костинов А.М. Влияние витамина D и интерферона  $\alpha$ -2b на цитокиновый статус беременных с вагинальными инфекциями // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 524–532. doi: 10.15789/2220-7619-EOV-1140

### Citation:

Kostinov M.P., Ignatieva M.A., Novikova S.V., Shmitko A.D., Polischuk V.B., Akhmatova N.K., Savisko A.A., Kostinov A.M. Effect of vitamin D and interferon  $\alpha$ -2b on cytokine profile in pregnant women with vaginal infections // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 524–532. doi: 10.15789/2220-7619-EOV-1140

## Введение

В последние десятилетия раскрыто многообразие функций витамина D, в том числе и иммуномодулирующая. Дефицит витамина D или его недостаточность сопровождается дерегуляцией комплекса механизмов, участвующих в развитии и сохранении жизнеспособности организма.

Беременные относятся к особой группе риска по дефициту витамина D, что опосредовано как физиологическими изменениями его метаболизма, так и недостаточностью поступления в организм [18, 19]. Доказана взаимосвязь между недостаточным уровнем 25(OH)D и неблагоприятным течением беременности, развитием плода и новорожденного [2, 16, 17, 25]. Дефицит витамина D у матери может привести к повышенной воспалительной реакции, поскольку он участвует в регуляции провоспалительных цитокинов посредством ядерного рецептора витамина D (VDR) [30]. Витамин D ингибирует пролиферацию Т-хелперов 1-го типа (Th1) и снижает синтез провоспалительных цитокинов Th1: IL-2, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , а также цитокинов Th9 — IL-9 и Th22 — IL-22. С другой стороны, витамин D стимулирует пролиферацию Th2 и продукцию противовоспалительных цитокинов Th2: IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, оказывающих протективное действие на течение беременности [14, 18, 21]. Следовательно, снижение уровня 25(OH)D в крови у женщин будет способствовать клиническим проявлениям инфекционной патологии, риск развития которой и так велик из-за возникновения естественного транзиторного иммунодефицитного состояния, связанного с наступлением беременности [10, 22, 23].

Общеизвестно, что развитие инфекционных заболеваний в период беременности требует непосредственного включения различных методов лечения и профилактики осложнений. Несмотря на важное значение антибактериальной терапии в течении и исходе воспалительного процесса, стимулирующий эффект иммуотропных препаратов на восстановление баланса про-, противовоспалительных цитокинов и интерферонов у беременных очевиден [20, 24, 26, 29]. Именно поэтому на практике широко применяются препараты интерферона  $\alpha$ -2b в качестве иммуномодулирующей терапии у беременных с инфекционной патологией [4, 5, 6, 11, 28].

Из вышеуказанного следует, что у беременных с сопутствующей инфекционной патологией имеется дисбаланс медиаторов воспаления, регуляции которого могут способствовать

как витамин D, так и интерферон  $\alpha$ -2b, однако это необходимо исследовать.

Цель исследования: изучение эффективности влияния в комплексной терапии препаратов витамина D и интерферона  $\alpha$ -2b на цитокиновый статус беременных с вагинальными инфекциями.

## Материалы и методы

Исследование проведено в рамках научно-го сотрудничества между ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова и ГБУЗ МО Московский Областной НИИ акушерства и гинекологии в соответствии с протоколом исследования и на основании заключения этического комитета. Всего обследовано 108 беременных.

Критерии включения: беременные с вагинальными инфекциями в возрасте 20–40 лет (средний возраст  $30,94 \pm 0,47$  лет) на 14–22 неделе беременности.

Критерии исключения: беременные с заболеваниями почек, желудочно-кишечного тракта, имеющие в анамнезе операции на органах желудочно-кишечного тракта; прием препаратов, которые влияют на усвоение витамина D (кортикостероиды, иммунодепрессанты, антиконвульсанты, антациды, содержащие алюминий, низкомолекулярные гепарины, нестероидные противовоспалительные препараты); гранулематозные заболевания (саркоидоз, туберкулез), сахарный диабет I и II типов, псориаз, онкологические заболевания.

Пациентки рандомизированно были разделены на 3 группы: I группа (29 пациенток) — принимали препараты витамина D, начиная со II триместра беременности; II группа (43 пациентки) — не принимали препараты витамина D во время беременности; III группа (13 пациенток) — не принимали препараты витамина D во время беременности, проводилась терапия препаратом интерферона  $\alpha$ -2b. Также была набрана группа сравнения, в которую входило 23 женщины без вагинальных инфекций с физиологическим течением беременности.

Все исследуемые пациентки прошли полное клинико-лабораторное обследование согласно протоколу. Также всем пациенткам проводилось УЗИ соответственно установленным срокам — трехкратно на 11–14, 18–21 и 30–34 неделях гестации.

У всех пациенток проведено бактериоскопическое исследование мазка на флору из влагалища. Определялось наличие эпителиальных клеток и слизи, количество лейкоцитов, тип флоры и наличие таких возбудителей, как

*Neisseria gonorrhoeae* и *Candida albicans*. Также проводилось бактериологическое исследование посева из цервикального канала на флору и чувствительность высеянной патогенной флоры к антибактериальным препаратам и изучение урогенитального соскоба методом ПЦР. Забор материала проводился стерильным одноразовым зондом, при этом определялись следующие возбудители: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Gardnerella vaginalis*, ВПЧ, ВПГ I и II типов, ЦМВ. Сыворотка крови всех исследуемых пациенток исследовалась на наличие TORCH-инфекции на аппарате «SunRise Tecan» методом ИФА.

Изучение цитокинового профиля (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8, TNF $\alpha$ ) и интерферонового статуса (IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ ) осуществляли двукратно: в 14–22 недель гестации и за 4 недели до родоразрешения, методом твердофазного ИФА с использованием наборов реагентов тест-систем «Вектор-Бест».

Определение уровня 25-гидроксивитамина D проводили на 14–22 неделе гестации и за 4 недели до родоразрешения, методом ИФА с использованием набора реагентов «25-ОН Vitamin D ELISA» (Abcam Inc., США).

**Лекарственные препараты.** Рекомендуются препаратом для лечения дефицита витамина D является колекальциферол. За последние годы в Российской Федерации стали доступны препараты колекальциферола различных зарубежных фирм и в разных формах выпуска: Вигантол (Колекальциферол) — масляный раствор 200 000 МЕ во флаконе-капельнице 10 мл (20 000 МЕ (500 мкг) в 1 мл) (Германия, Япония); Аквадетрим (Колекальциферол) — водный раствор 150 000 МЕ во флаконе-капельнице 10 мл (15 000 МЕ (375 мкг) в 1 мл) (Польша, Россия); Ультра-Д — биологически активная добавка к пище (БАД), таблетки жевательные, 25 мкг (1000 МЕ) — 60 таблеток в упаковке (Финляндия); Витамин D3 колекальциферол — биологическая активная добавка к пище (БАД), капсулы (600 МЕ) — 60 капсул в упаковке (США).

Беременным с 14–22 недели гестации до родоразрешения рекомендовался один из указанных препаратов, дозировки назначались в зависимости от исходного уровня 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови. Рекомендуются профилактические дозы для беременных составляли 800–1200 МЕ в сутки, а лечебные дозы — 1500–4000 МЕ в сутки в соответствии с Клиническими Рекомендациями [24].

Показаниями для назначения препарата интерферона  $\alpha$ -2b являлись: рецидивирующая

герпесвирусная инфекция с обострениями во время беременности, острые респираторные инфекции (ОРИ), подозрение на внутриутробные инфекции (ВУИ) при УЗИ. Препаратом выбора стал человеческий рекомбинантный интерферон  $\alpha$ -2b (виферон). Данное лекарственное средство является официально разрешенным препаратом для лечения беременных и применяется в дозировках 150 000 МЕ и 500 000 МЕ. При первичном обращении, беременным из II группы на 14–22 неделе гестации препарат назначали по схеме: 500 000 МЕ (в суппозиториях) 2 раза в сутки в течение 5 дней, затем по 500 000 МЕ 1 раз в сутки — 10 дней, затем по 500 000 МЕ 2 раза в неделю — 5 недель.

Беременным I, II и III групп однократно проводилась терапия вагинальных инфекций антибактериальными препаратами с учетом чувствительности высеянной патогенной флоры, согласно дозировке, указанной в инструкции по применению препарата.

**Статистическая обработка результатов.** Все полученные данные анализировались на персональном компьютере с использованием программ Microsoft Excel 2007, SPSS v.18 for Windows. Все количественные параметры были проверены на соответствие нормальному распределению признака при помощи критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова.

Числовые параметры, имеющие нормальное распределение, представляли в формате  $M \pm m$ . Параметры, имеющие распределение, отличное от нормального, описывали с помощью медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1;Q3). Качественные показатели были закодированы условными символами, их подсчет представляли в абсолютных и относительных величинах (%).

В основу математической обработки материала были положены как параметрические (t-критерий Стьюдента для нормально распределенных показателей), так и непараметрические (U-критерий Манна–Уитни, Вилкоксона, Колмогорова–Смирнова) методы прикладной математической статистики. Для нахождения различий между качественными показателями использовали метод хи-квадрат ( $\chi^2$ ) с поправкой Йетса на непрерывность, для вычисления которого прибегали к построению «сетки 2 $\times$ 2» и «3 $\times$ 2», а также точный критерий Фишера для малых выборок. Статистически значимыми считались отличия при  $p < 0,05$ . Связь между изучаемыми параметрами определяли с помощью корреляционного анализа Пирсона (r) и Спирмена (R) с последующим установлением

его значимости по критерию *t*. При этом считали умеренной зависимостью коэффициент корреляции от 0,3 до 0,7; сильной — более 0,7.

## Результаты

Данные распределения вагинальных инфекций у обследованных беременных представлены в таблице. Чаще всего у пациенток всех групп диагностировался кандидозный кольпит, преимущественно в мазках на флору выявлена *Candida albicans*. Также с одинаковой частотой встречались инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), преимущественными возбудителями которых были *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, ВПГ I и II типов и ЦМВ, как с частыми обострениями во время беременности, так и без обострений. В I и II группах у пациенток обнаружена ВПЧ-инфекция, а во II и III — кондиломы промежности, у одной из пациенток отмечались гигантские кондиломы, требующие удаления во время беременности. При проведении анализа обращает внимание, что беременные с рецидивирующей герпесвирусной инфекцией (ГВИ) во время беременности сконцентрированы в III группе, где применялся интерферон  $\alpha$ -2b.

Изучение исходного уровня 25-гидроксивитамина D в сыворотке крови у беременных с вагинальными инфекциями в начале II триместра показало его наличие в пределах нормальных (более 30 нг/мл) значений только у 7 (24%), 13 (30%) и 3 (23%) у пациенток I, II и III групп соответственно. У остальных беременных в исследуемых группах (I, II и III) уровень витамина D оказался ниже нормы: от недостаточного (21–29 нг/мл) — 8 (28%), 9 (21%) и 3 (23%) — до дефицита (менее 20 нг/мл) — 11 (38%), 19 (44%) и 6 (46%) — и выраженного дефицита (менее 10 нг/мл) — 3 (10%), 2 (5%) и 1 (8%). В группе сравнения, у беременных без вагинальных инфекций, уровень 25-гидроксивитамина D в пределах нормальных значений регистрировали в 100% случаев.

При последнем визите, за неделю до родоразрешения, в I группе пациенток, получавших во время беременности витамин D, низкие показатели 25-гидроксивитамина D определялись только у 4 (14%) беременных, дефицита и выраженного дефицита выявлено не было. Нормального уровня 25-гидроксивитамина D достиг у 25 (86%) женщин.

При анализе II и III групп пациенток, не принимавших препараты витамина D во время беременности, на момент последнего визита выявлена следующая картина. У боль-

шинства обследуемых женщин определялся дефицит витамина D: 31 (72%) во II группе, 9 (69%) — в III группе; недостаточность испытывали: 8 женщин (19%) II группы и 3 (23%) — III группы; выраженный дефицит был установлен у 3 женщин (7%) II группы и у 1 (8%) — в III группе; нормальный уровень витамина D сохранился лишь у 1 (2%) беременной II группы.

У пациенток группы сравнения перед родоразрешением нормальный уровень витамина D сохранился у 16 (70%) из 23 беременных, у 7 (30%) выявлена его недостаточность.

При оценке исходного содержания провоспалительного цитокина IL-8 в I группе женщин с вагинальными инфекциями, которые принимали витамин D, отмечалось существенное повышение его уровня по сравнению с группой здоровых беременных (группа сравнения) ( $p < 0,05$ ) (рис., А). К моменту родоразрешения в данной группе отмечено снижение концентрации IL-8, сопоставимое с уровнем у женщин группы сравнения ( $p > 0,05$ ). Во II груп-

**Таблица. Характеристика и частота встречаемости вагинальных инфекций у беременных**

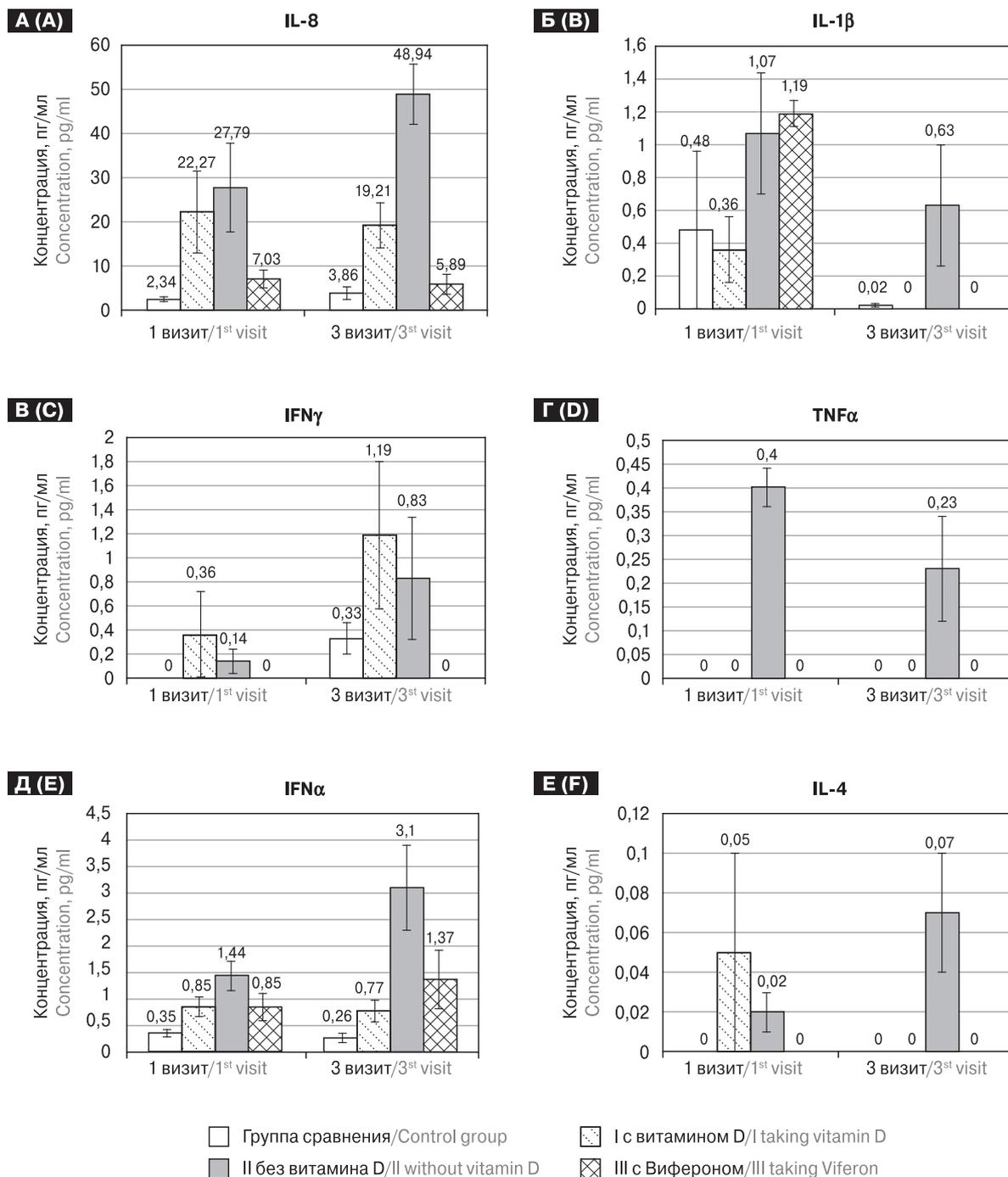
Table. Characteristics and frequency of vaginal infections in pregnant women

Вагинальные инфекции Vaginal infections	Группы Groups		
	I (n = 29)	II (n = 43)	III (n = 13)
<b>Рецидивирующая герпесвирусная инфекция (обострение во время беременности)</b> Recurrent herpes virus infection (exacerbation during pregnancy)	0%	0%	100%
<b>Герпесвирусная инфекция (без обострений во время беременности)</b> Herpes virus infection (without exacerbations during pregnancy)	34,5%	30,8%	30,2%
<b>Кольпит</b> Colpitis	37,9%	38,5%	74,4%
<b>Высеваемая флора из цервикального канала</b> Sown flora from the cervical canal	13,8%	15,4%	27,9%
<b>ИППП</b> STI	24,1%	61,5%	32,6%
<b>ВПЧ-инфекция</b> HPV infection	3,4%	15,4%	0%
<b>Кондиломатоз</b> Condylomatosis	0%	15,4%	4,7%

пе беременных с вагинальными инфекциями, не получавших терапию витамином D, этот показатель был выше значений в группе I ( $p < 0,01$ ). Также в I группе после лечения витамином D отмечено достоверное снижение к моменту родоразрешения изначально повышенного уровня провоспалительного цитокина IL-1 $\beta$  ( $p < 0,01$ ) (рис., Б).

Оценка содержания IFN $\gamma$ , напротив, показала повышение его уровня после витаминоте-

рапии ( $p < 0,01$ ) (рис., В). Концентрация IFN $\gamma$  в группе I на момент второго визита оказалась значимо выше по сравнению с группой здоровых беременных ( $p < 0,01$ ). Изучение частоты заболеваемости ОРИ в группе I, выявило достоверно меньшее количество эпизодов (1 эпизод — 3,4%), по сравнению с другими группами, в том числе с группой беременных без вагинальных инфекций (группа сравнения) (2 эпизода — 8,7%) ( $p < 0,05$ ).



**Рисунок. Динамика про/противовоспалительных цитокинов (пг/мл) у исследуемых групп беременных**  
 Figure. Dynamics of pro/anti-inflammatory cytokines (pg/ml) in the studied groups of pregnant women

В группе II, где беременные не получали терапию витамином D, исходные уровни провоспалительного цитокина IL-8 были выше, чем у здоровых женщин из группы сравнения ( $p < 0,01$ ). В данной группе повышенная концентрация IL-8 в сыворотке крови еще сильнее увеличивалась перед родоразрешением и была существенно выше в сравнении с группой, где применялось лечение (группа I) ( $p < 0,01$ ). Кроме того, в группе II отмечалось нарастание уровней провоспалительных цитокинов IL-8 и TNF $\alpha$  в динамике — с момента включения в исследование до родоразрешения ( $p < 0,01$ ) (рис., Г). Изменений интерферонового статуса в данной группе выявлено не было. Частота заболеваемости ОРВИ (19 эпизодов — 44,2%) у беременных женщин данной группы была более чем в 11 раз выше, чем в группе I (3,4%), где принимали препараты витамина D, и в 5 раз выше по сравнению со здоровыми беременными группы сравнения (8,7%) ( $p < 0,05$ ).

Группа III включала беременных с рецидивирующими герпетическими инфекциями, получавших только интерферон  $\alpha$ -2b. Концентрация IL-8 в данной группе перед родоразрешением была достоверно ниже, чем в группе II, где терапия витамином D не проводилась (II группа). В группе III уровень IFN $\alpha$  изначально был выше его концентрации в группе I, получавшей витамин D (рис., Д). В данной группе уровень IFN $\alpha$  в динамике после лечения препаратом интерферон  $\alpha$ -2b, перед родоразрешением, увеличивался и был выше значений группы сравнения ( $p < 0,01$ ). Частота возникновения ОРВИ в группе составила 46,2% (6 эпизодов), что более чем в 13,5 раз выше, чем в группе женщин, получавших препараты витамина D во время беременности (группа I). Следовательно, дополнительное назначение витамина D в комплексном лечении беременных с вагинальными инфекциями имеет преимущество по сравнению с базисной (антибактериальной) терапией, поскольку приводит к изменению концентрации про/противовоспалительных цитокинов, что клинически проявляется уменьшением частоты инфекционных осложнений.

При анализе концентрации IL-4 достоверного различия между группами, а также в динамике наблюдения, не выявлено (рис., Е).

## Обсуждение

Цитокины играют важную роль в развитии иммунного ответа. Они обеспечивают взаимодействие между иммунокомпетентными клетками и выполняют роль эффекторных моле-

кул иммунных реакций. Функция цитокинов многогранна — они являются мессенджерами, обеспечивающими связь иммунной системы с гемопоэзом, с эндокринной и нервной системами [9]. Именно посредством цитокинов иммунная система регулирует многие процессы, связанные с метаболизмом, физиологической и репаративной регенерацией, оказывая поддерживающее влияние на гомеостаз. На цитокиновый баланс огромное влияние оказывает наше окружение, включая различные микробы.

У больных вагинальными инфекциями беременных женщин высокие уровни IL-8 свидетельствуют о наличии воспалительного процесса. Применение витамина D оказывало противовоспалительное действие, приводя к нормализации данного показателя до уровня здоровых лиц. У больных, не принимавших витамин D, изначально высокие уровни IL-8 продолжали еще сильнее повышаться вплоть до родоразрешения. Кроме того, у больных, находившихся только на стандартной терапии, отмечалось также нарастание в динамике уровней провоспалительного TNF $\alpha$  ( $p < 0,01$ ). Повышение концентрации TNF $\alpha$  ведет к усилению выработки IL-6 [8]. IL-1 и IL-6 являются мощными факторами дифференцировки В- и Т-лимфоцитов, главными индукторами конечного этапа созревания В-клеток и макрофагов, а также цитотоксических лимфоцитов [1]. Действуя синергически с IL-3, они вызывают дифференцировку стволовых клеток костного мозга. Образование IFN $\gamma$  в Т-лимфоцитах, в свою очередь, влияет на приобретение Т-лимфоцитами свойств Th1 типа [12].

В группе беременных женщин с рецидивирующими герпетическими инфекциями, получавших только интерферон  $\alpha$ -2b, концентрация IL-8 перед родоразрешением была значимо ниже, чем в группе, где терапия не проводилась, что может свидетельствовать о противовоспалительном действии интерферона  $\alpha$ -2b.

Стандартная (антибактериальная) терапия у беременных с вагинальными инфекциями не вызывала изменения интерферонового статуса, в то время как в группе беременных, принимавших витамин D, содержание IFN $\gamma$ , в сопоставлении с группой сравнения в динамике наблюдения, повышалось. Однако следует отметить, что увеличение концентрации IFN $\gamma$  перед родоразрешением до  $1,19 \pm 0,61$  пг/мл регистрировалось в пределах физиологических норм и не отличалось от аналогичных показателей, полученных другими авторами у беременных без ОРВИ [11]. Так как, согласно данным исследователей, в период беременно-

сти снижается синтез провоспалительных цитокинов, в том числе за счет переключения иммунного ответа на Т-хелперы 2 и 3 типа, а также усиления синтеза белков семейства трансформирующего фактора роста (ТФР), способных блокировать провоспалительные цитокины, в том числе  $IFN\gamma$  [15]. Полученное в работе увеличение данного показателя может свидетельствовать о повышении защитных ресурсов организма против вирусной инфекции. Это подтверждается снижением у беременных количества эпизодов ОРИ по сравнению с больными беременными, получавшими стандартную базисную терапию (более чем в 11 раз — 3,4% против 44,2%), а также со здоровыми беременными (в 2,5 раза — 3,4% против 8,7%) ( $p < 0,05$ ). Однако нельзя исключать роль и самой герпесвирусной инфекции, так как ряд работ свидетельствует о повышении продукции  $IFN\gamma$  у беременных с ГВИ, но, как правило, до более высоких значений, способных повлиять на течение беременности и привести к неблагоприятным исходам [3, 7]. Следовательно, комбинированная терапия, включающая назначение витамина D, в дополнение к стандартной, у беременных с вагинальными инфекциями ока-

зывается более эффективной по сравнению с терапией в монорежиме, поскольку оказывает иммунорегулирующее действие на цитокиновый статус и снижает частоту инфекционных осложнений.

## Заключение

У беременных с бактериальным вагинозом в 53,8–60,5% случаев встречается низкий уровень витамина D по сравнению с женщинами без вагинальных инфекций с физиологическим течением беременности. Включение в комплексную терапию препаратов витамина D у беременных с бактериальным вагинозом, так же как и интерферона  $\alpha$ -2b, оказывало противовоспалительное действие, приводя к нормализации  $IL$ -8 до уровня здоровых лиц. Назначение витамина D дополнительно сопровождалось изменением интерферонового статуса, характеризующимся повышением содержания  $IFN\gamma$  до допустимых физиологических норм, и усилением антимикробной функции, что подтверждалось снижением количества эпизодов ОРИ более чем в 11 раз у беременных с вагинальными инфекциями.

## Список литературы/References

1. Аллергология и иммунология: национальное руководство. Под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 656 с. [Allergology and immunology: national manual. Eds. R.M. Khaitov, N.I. Ilyina. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 656 p. (In Russ.)]
2. Афиногенова В.П., Лукачев И.В., Костинов М.П. Иммуноterapia: механизм действия и клиническое применение иммунокорректирующих препаратов // Лечащий врач. 2010. № 4. С. 9. [Afinogenova V.P., Lukachev I.V., Kostinov M.P. Immunotherapy: mechanism of action and clinical application of immunocorrective drugs. *Lechashchiy vrach = The Attending Physician*, 2010, no. 4, p. 9. (In Russ.)]
3. Буданов П.В. Патогенетические, иммунологические и клинические цели лечения урогенитальных инфекций во время беременности. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2018. Т. 17, № 4. С. 77–87. [Budanov P.V. Pathogenetic, immunological and clinical goals of treatment of urogenital infections during pregnancy. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii = Gynecology, Obstetrics and Perinatology*, 2018, vol. 17, no. 4, pp. 77–87. (In Russ.)]
4. Дефицит витамина D у взрослых: диагностика, лечение и профилактика. Федеральные клинические рекомендации. М., 2015. 77 с. [Vitamin D deficiency in adults: diagnosis, treatment and prevention. Federal clinical guidelines. Moscow, 2015. 77 p. (In Russ.)]
5. Еремкина А.К., Мокрышева Н.Г., Пигарова Е.А., Мирная С.С. Витамин D: влияние на течение и исходы беременности, развитие плода и здоровье детей в постнатальном периоде // Терапевтический архив. 2018. Т. 90, № 10. С. 115–127. [Eremkina A.K., Mokrysheva N.G., Pigarova E.A., Mirnaya S.S. Vitamin D: effects on pregnancy, maternal, fetal and postnatal outcomes. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*, 2018, vol. 90, no. 10, pp. 115–127. doi: 10.26442/terarkh201890104-127 (In Russ.)]
6. Иммунология беременности. Под ред. Г.Т. Сухих, Л.В. Ванько. М.: Издательство РАМН, 2003. 400 с. [Pregnancy immunology. Eds. G.T. Sukhikh, L.V. Vanko. Moscow: RAMS Publishing house, 2003. 400 p. (In Russ.)]
7. Климова Р.Р., Малиновская В.В., Паршина О.В., Гусева Т.С., Новикова С.В., Торшина З.В., Зароченцева Н.В., Цибизов А.А., Куш А.А. Влияние вирусных инфекций на цитокиновый профиль у беременных женщин с отягощенным акушерским анамнезом и иммунокорректирующая терапия интерфероном альфа2b человека // Вопросы вирусологии. 2013. Т. 58, № 1. С. 18–23. [Klimova R.R., Malinovskaya V.V., Parshina O.V., Guseva T.S., Novikova S.V., Torshina Z.V., Zarochentseva N.V., Tsbisov A.A., Kushch A.A. The effect of viral infections on the cytokine profile in pregnant women with obstetric complications and immunotherapy with human alpha2b interferon. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2013, vol. 58, no. 1, pp. 18–23. (In Russ.)]
8. Клинико-иммунологическая эффективность иммунобиологических препаратов: справочник. Под ред. М.П. Костинова, Н.А. Озерецковского. М.: Миклош, 2004. 256 с. [Clinical-immune effectiveness of immune biological medicinal agents: reference book. Eds. M.P. Kostinov, N.A. Ozeretskovskiy. Moscow: Miklosh, 2004. 256 p. (In Russ.)]

9. Костинов М.П., Лукачев И.В., Мещерякова А.К., Дмитриева Е.В., Ахматова Н.К., Хромова Е.А., Магаршак О.О., Сависько А.А. Индукция эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета в процессе лечения топической формой рекомбинантного интерферона- $\alpha 2b$  при респираторных инфекциях у беременных // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2017. № 2. С. 38–45. [Kostinov M.P., Lukachev I.V., Meshcheryakova A.K., Dmitrieva E.V., Akhmatova N.K., Khromova E.A., Magarshak O.O., Savisko A.A. Induction of effectors of innate and adaptive immunity in the process of therapy of topic form of recombinant interferon- $\alpha 2b$  during respiratory infections in pregnant. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2017, no. 2, pp. 38–45. (In Russ.)]
10. Костинов М.П., Хромова Е.А., Сависько А.А., Костинова А.М. Функциональные особенности иммунной системы при физиологическом течении беременности и их взаимосвязь с вакцинацией против гриппа // Consilium Medicum. 2016. Т. 18, № 6. С. 59–62. [Kostinov M.P., Khromova E.A., Savisko A.A., Kostinova A.M. Features of the immune system functioning during physiological pregnancy and their relationship with vaccination against influenza. *Consilium Medicum = Consilium Medicum*, 2016, vol. 18, no. 6, pp. 59–62. (In Russ.)]
11. Мещерякова А.К., Костинов М.П., Кытько О.В., Малиновская В.В., Тарбаева, Д.А. Никонова А.А., Черданцев А.П. Клинический эффект применения различных лекарственных форм Виферона у беременных с острой респираторной инфекцией // Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. 2010. № 4. С. 46–49. [Mescheriakova A.K., Kostinov M.P., Kytko O.V., Malinovskaya V.V., Tarbaeva D.A. Nikonov A.A., Cherdantsev A.P. The clinical effect of the use of various Viferon's dosage forms in pregnant women with acute respiratory infection. *Effektivnaya farmakoterapiya v akusherstve i ginekologii = Effective Pharmacotherapy in Obstetrics and Gynecology*, 2010, no. 4, pp. 46–49. (In Russ.)]
12. Мещерякова А.К., Костинов М.П., Магаршак О.О., Гусева Т.С., Паршина О.В. Влияние препарата рекомбинантного интерферона  $\alpha 2b$  в форме геля на течение ОРИ и состояние мукозального иммунитета у беременных // Вестник оториноларингологии. 2014. № 6. С. 50–53. [Mescheriakova A.K., Kostinov M.P., Magarshak O.O., Guseva T.S., Parshina O.V. The influence of gel-like recombinant interferon  $\alpha 2b$  on the clinical course of acute respiratory infection and the state of mucosal immunity in the pregnant women. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2014, no. 6, pp. 50–53. (In Russ.)]
13. Мещерякова А.К., Костинов М.П., Магаршак О.О., Гусева Т.С., Паршина О.В., Парфенов В.В., Брагина Г.С. Показатели местного иммунитета у беременных с острой респираторной инфекцией на фоне интерферонотерапии // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2014. Т. 13, № 2. С. 44–46. [Mescheryakova A.K., Kostinov M.P., Magarshak O.O., Guseva T.S., Parshina O.V., Parfenov V.V., Bragina G.S. Local immunity levels in pregnant women with acute respiratory infection against the background of interferon therapy. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii. = Gynecology, Obstetrics and Perinatology*, 2014, vol. 13, no. 2, pp. 44–46. (In Russ.)]
14. Пигарова Е.А., Плещева А.В., Дзеранова Л.К. Влияние витамина D на иммунную систему // Иммунология. 2015. № 1. С. 62–66. [Pigarova E.A., Pleshcheeva A.V., Dzeranova L.K. Influence of vitamin D on the immune system. *Immunologiya = Immunology*, 2015, no. 1, pp. 62–66. (In Russ.)]
15. Савченко Т.Н., Алешкин В.А., Доброхотова Ю.Э., Афанасьев С.С., Агаева М.И. Особенности иммунного статуса беременных с герпесвирусной инфекцией // Фарматека. 2017. № 12 (345). С. 46–50. [Savchenko T.N., Aleshkin V.A., Dobrokhotova Yu.E., Afanasyev S.S., Agayeva M.I. Features of the immune status of pregnant women with herpesvirus infection. *Farmateka = Pharmateca*, 2017, no. 12 (345), pp. 46–50. (In Russ.)]
16. Семенов Б.Ф., Ахматова Н.К., Киселевский М.В. Клеточные и молекулярные события при введении поликомпонентной бактериальной вакцины и заражении *S. typhimurium* // Молекулярная медицина. 2005. № 4. С. 48–54. [Semenov B.F., Akhmatova N.K., Kiselevsky M.V. Cellular and molecular events with the introduction of a multicomponent bacterial vaccine and *S. typhimurium* infection. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine*, 2005, no. 4, pp. 48–54. (In Russ.)]
17. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система). Под ред. А.Г. Чучалина, В.В. Яснецова. Выпуск XVII. М., 2016. 1045 с. [Federal guidelines for the use of drugs (formulary system). Eds. A.G. Chuchalin, V.V. Yasnetsov. Iss. XVI. Moscow, 2016. 1045 p. (In Russ.)]
18. Хашукоева А.З., Ибрагимова М.И., Хашукоева З.З., Бурденко М.В. Возможности применения Виферона (Ферон) в акушерско-гинекологической практике // Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. 2007. № 4. С. 23–27. [Khashukoeva A.Z., Ibragimova M.I., Khashukoeva Z.Z., Burdenko M.V. The possibilities of using Viferon (FERON) in obstetric-gynecological practice. *Effektivnaya farmakoterapiya v akusherstve i ginekologii = Effective Pharmacotherapy in Obstetrics and Gynecology*, 2007, no. 4, pp. 23–27. (In Russ.)]
19. Aliyari S.Z., Ebrahimi K.A., Mehdi-pour A., Nozad C.H. Regulation and roles of CD26/DPPIV in hematopoiesis and diseases. *Biomed. Pharmacother.*, 2017, vol. 24, no. 91, pp. 88–94. doi: 10.1016/j.biopha
20. Barrera D., Avila E., Hernández G., Méndez I., González L., Halhali A., Larrea F., Morales A., Díaz L. Calcitriol affects hCG gene transcription in cultured human. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2008, vol. 22, no. 6, p. 3. doi: 10.1186/1477-7827-6-3
21. Ginde A.A., Sullivan A.F., Mansbach J.M., Camargo C.A. Vitamin D insufficiency in pregnant and nonpregnant women of child-bearing age in the United States. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2010, vol. 202, pp. 436–438. doi: 10.1016/j.ajog.2009.11.036
22. Hollis B.W., Wagner C.L. Vitamin D supplementation during pregnancy: Improvements in birth outcomes and complications through direct genomic alteration. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2017, vol. 453, pp. 113–130. doi: 10.1016/j.mce.2017.01.039
23. Karras S., Paschou S.A., Kandaraki E., Anagnostis P., Annweiler C., Tarlatzis B.C., Hollis B.W., Grant W.B., Goulis D.G. Hypovitaminosis D in pregnancy in the Mediterranean region: a systematic review. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2016, vol. 70, no. 9, pp. 979–986. doi: 10.1038/ejcn.2016.12
24. Ketko A.K., Lin C., Moore B.B., LeVine A.M. Surfactant protein A binds flagellin enhancing phagocytosis and IL-1 $\beta$  production. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 12: e82680. doi: 10.1371/journal.pone.0082680
25. Khan R., Basha A., Goverdhanam R., Rao P.C., Tanemura Y., Fujimoto Y., Begum A.S. Attenuation of TNF- $\alpha$  secretion by L-proline-based cyclic dipeptides produced by culture broth of *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2015, vol. 25, no. 24, pp. 5756–5761. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.10.075

26. Liu N.Q., Kaplan A.T., Lagishetty V., Ouyang Y.B., Ouyang Y., Simmons C.F., Equils O., Hewison M. Vitamin D and the regulation of placental inflammation. *J. Immunol.*, 2011, vol. 186, no. 10, pp. 5968–5974. doi: 10.4049/jimmunol.1003332
27. Reichetzeder C., Dwi Putra S.E., Li J., Hocher B. Developmental origins of disease — crisis precipitates change. *Cell Physiol. Biochem.*, 2016, vol. 39, no. 3, pp. 919–938. doi: 10.1159/000447801
28. Saraf R., Morton S.M.B., Camargo C.A., Grant C.C. Global summary of maternal and newborn vitamin D status — a systematic review. *Matern. Child Nutr.*, 2016, vol. 12, no. 4, pp. 647–668. doi: 10.1111/mcn.12210
29. Steinborn A., Schmitt E., Kisielewicz A., Rechenberg S., Seissler N., Mahnke M., Zeier M., Sohn C. Pregnancy-associated diseases are characterized by the composition of the systemicregulatory T-cell (Treg) pool with distinct subsets of Tregs. *Clin. Exp. Immunol.*, 2011, vol. 167, pp. 84–98. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04493.x
30. Warning J.C., McCracken S.A., Morris J.M. A balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system. *Reproduction*, 2011, vol. 141, pp. 715–724. doi: 10.1530/REP-10-0360S

**Авторы:**

**Костинов М.П.**, д.м.н., профессор, зав. лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; профессор кафедры эпидемиологии ИПО Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва, Россия;

**Игнатъева М.А.**, научный сотрудник акушерского observationalного отделения ГБУЗ МО Московский областной НИИ акушерства и гинекологии, Москва, Россия;

**Новикова С.В.**, д.м.н., руководитель акушерского observationalного отделения ГБУЗ МО Московский областной НИИ акушерства и гинекологии, Москва, Россия;

**Шмитко А.Д.**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

**Полищук В.Б.**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

**Ахматова Н.К.**, д.м.н., профессор, зав. лабораторией механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

**Сависько А.А.**, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики детских болезней с курсом здорового ребенка ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Костинов А.М.**, студент 1-го года магистратуры биологического факультета ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

**Authors:**

**Kostinov M.P.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Vaccine Prophylaxis and Immunotherapy, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation; Professor of the Department of Epidemiology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

**Ignatieva M.A.**, Researcher, Obstetric Observatory Department, Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Moscow, Russian Federation;

**Novikova S.V.**, PhD, MD (Medicine), Head of the Obstetric Observatory Department, Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Moscow, Russian Federation;

**Shmitko A.D.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Vaccine Prophylaxis and Immunotherapy, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;

**Polischuk V.B.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Vaccine Prophylaxis and Immunotherapy, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;

**Akhmatova N.K.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Mechanisms of Regulation of Immunity, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;

**Savisko A.A.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Propaedeutics of Children's Diseases with the Course of a Healthy Child, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Kostinov A.M.**, Student of the 1<sup>st</sup> Year of the Master's Degree, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 24.01.2019  
Отправлена на доработку 15.01.2020  
Принята к печати 11.03.2020

Received 24.01.2019  
Revision received 15.01.2020  
Accepted 11.03.2020

# ЭКОЛОГО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Е.А. Сюзюмова<sup>1</sup>, Н.В. Тельнова<sup>2</sup>, А.О. Шапарь<sup>3</sup>, Б.И. Асланов<sup>4</sup>, Н.А. Стоянова<sup>1</sup>,  
Н.К. Токаревич<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора г. Санкт-Петербурга, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** В статье дан анализ эпидемиологической и экологической ситуации по клещевому энцефалиту (КЭ) в Санкт-Петербурге в 1996–2016 гг. В Санкт-Петербурге существуют два основных переносчика вируса КЭ: *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus*. Инфицированность клещей вирусом КЭ составляет 0,61%, что было определено методом иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции. Установлено, что количество людей, обращающихся за медицинской помощью из-за укусов клещей, растет, а заболеваемость, напротив, снижается. Так средний показатель «покусанности» увеличился с 141,9 в 1996–2002 гг. до 288,9 в 2010–2016 гг. Несмотря на то что основным местом заражения КЭ является Ленинградская область, риск пострадать от укуса клеща и заболеть КЭ существует и в Санкт-Петербурге. Всего около 1000 человек в год подвергаются нападению клещей в черте города. Средний показатель заболеваемости КЭ в 1996–2002 гг. составлял 1,66, но в 2010–2016 гг. снизился до 1,17. В Курортном, Пушкинском и Приморском районах Санкт-Петербурга жители наиболее часто подвергаются нападению клещей и заболевают КЭ. Мужчины болеют чаще, чем женщины, что характерно для Российской Федерации. Наиболее высокие показатели заболеваемости на 100 тыс. жителей определенной возрастной категории приходится на детей в возрасте до 14 лет, что отличает Санкт-Петербург от большинства территорий России. Сезонное распределение случаев КЭ в Санкт-Петербурге типично для РФ. Заболевание имеет весенне-летнюю сезонность и длится с апреля по сентябрь. Летальность при КЭ в Санкт-Петербурге в 1996–2016 гг. составила 1,37%. Доля вакцинированного населения имеет тенденцию к росту, но все еще остается низкой (0,25–0,58%). Отсутствие зарегистрированных случаев КЭ среди профессионально угрожаемых групп населения свидетельствует об эффективности профилактики, проводимой среди этих контингентов. Обнаружение антител к вирусу КЭ у 5,0% практически здоровых и не вакцинированных жителей Санкт-Петербурга существенно дополняет данные официальной регистрации этой инфекции и позволяет получить более правильное представление о ее реальном распространении.

**Ключевые слова:** клещевой энцефалит, заболеваемость, иксодовые клещи, инфицированность, профилактика, Санкт-Петербург.

---

**Адрес для переписки:**

Сюзюмова Елена Александровна  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.  
Тел.: 8 (812) 232-21-36 (служебн.).  
Факс: 8 (812) 232-92-17.  
E-mail: elena\_syuz@mail.ru

**Contacts:**

Elena A. Siuziumova  
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,  
St. Petersburg Pasteur Institute.  
Phone: +7 (812) 232-21-36 (office).  
Fax: +7 (812) 232-92-17.  
E-mail: elena\_syuz@mail.ru

**Библиографическое описание:**

Сюзюмова Е.А., Тельнова Н.В., Шапарь А.О., Асланов Б.И.,  
Стоянова Н.А., Токаревич Н.К. Эколого-эпидемиологическая  
характеристика клещевого энцефалита в Санкт-Петербурге //  
Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 533–542. doi: 10.15789/  
2220-7619-EAE-924

**Citation:**

Siuziumova E.A., Telnova N.V., Shapar A.O., Aslanov B.I., Stoyanova N.A.,  
Tokarevich N.K. Ecological and epidemiological characteristics of tick-borne  
encephalitis in St. Petersburg // Russian Journal of Infection and Immunity =  
Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 533–542. doi: 10.15789/2220-  
7619-EAE-924

## ECOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN ST. PETERSBURG

Siuziyomova E.A.<sup>a</sup>, Telnova N.V.<sup>b</sup>, Shapar A.O.<sup>c</sup>, Aslanov B.I.<sup>d</sup>, Stoyanova N.A.<sup>a</sup>, Tokarevich N.K.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Epidemiological Supervision Department of the Directorate of the Rospotrebnadzor for St. Petersburg, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>c</sup> Center of State Sanitary and Epidemiological Surveillance, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>d</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Here, we provide an analysis on 1996–2016 St. Petersburg tick-borne encephalitis (TBE) epidemiological and ecological data. In particular, two main TBE transmission vectors were observed in St. Petersburg: *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ricinus*. TBE tick contamination was 0.61% as shown by ELISA and polymerase chain reaction data. It is found that number of subjects seeking for medical aid due to tick bites rises, whereas TBE incidence declines. In particular, a mean 1996–2002 vs. 2010–2016 tick-bite incidence rate increased from 141.9 up to 288.9, respectively. Despite that the Leningrad region is a major area for TBE spread, however, a risk of exposure to tick bites as well as TBE infection exists even in the city of St. Petersburg. In connection with this, around 1,000 subjects undergo tick bites within the city limits. Moreover, whereas a 1996–2002 mean TBE incidence rate was 1.66, it decreased in 2010–2016 down to 1.17. A peak TBE incidence was documented in St. Petersburg Kurortny, Pushkinsky and Primorsky districts. In addition, males vs. females suffered from TBE at higher frequency in Russian Federation, with its peak incidence rate being reported in children under 14 that differs St. Petersburg from the most of other regions in the Russian Federation. A seasonal distribution of TBE cases in St. Petersburg does not differ from that one for the remainder of Russian regions, which displays a spring-summer seasonality lasting from April to September. Of note, 1996–2016 St. Petersburg TBE mortality was 1.37%. A coverage of TBE vaccinated population tends to rise but still remains at low level (0.25–0.58%). Lack of reported TBE cases in occupationally threatened human cohorts evidences about efficient preventive measures. Detection of TBE virus-specific serum antibodies in 5.0% apparently healthy and unvaccinated residents in St. Petersburg significantly complements the official TBE recording data and provides a more accurate understanding of its actual spread.

**Key words:** tick-borne encephalitis, morbidity, ixodic ticks, infection, prevention, St. Petersburg.

## Введение

Клещевой энцефалит (КЭ) представляет серьезную проблему для большинства территорий нашей страны. В настоящее время КЭ регистрируется в 60 субъектах РФ [17]. Широкое распространение этой инфекции, ее профессиональный характер, отсутствие эффективных методов лечения, хронизация инфекционного процесса, развитие стойких неврологических осложнений и инвалидности [7, 13], нередкий летальный исход [16, 17, 18], обуславливают социальное значение КЭ. Кроме того, в настоящее время происходит расширение [3, 8, 24, 25] и повышение активности [3, 8, 24] очагов КЭ. Общие финансовые потери, которые влечет за собой один случай КЭ, составляют около 400 тыс. руб. (в ценах 2013 года) [12, 19].

Интенсивность эпидемического процесса и степень риска заражения КЭ имеет региональные особенности, обусловленные рядом экологических и социально-экономических факторов [21, 25]. Более того, в XXI в. тренды заболеваемости КЭ в нашей стране имеют разную направленность — в России в целом наблюдается резкое снижение заболеваемости, а на Европейском Севере — существенный подъем этого показателя [22, 27]. Задачи совер-

шения профилатических мероприятий в отношении КЭ обосновывают целесообразность изучения особенностей природных очагов этой инфекции и социальных факторов, определяющих частоту встречи населения с возбудителем на разных административных территориях. В подавляющем большинстве публикаций, посвященных эколого-эпидемиологическим аспектам КЭ, были проанализированы данные полученные на сельских территориях, выводы и рекомендации таких работ не могут полностью быть перенесены на мегаполис, существенно отличающийся структурой природных очагов и социальными характеристиками не только от сельских поселений, но и от небольших городов.

Целью работы является анализ эколого-эпидемиологической обстановки по КЭ на территории Санкт-Петербурга (СПб) за период с 1996–2016 гг.

## Материалы и методы

Данные о ежемесячных показателях обилия клещей, рассчитаны на основании результатов сбора голодных имаго на флаг за один час с растительности в период их наибольшей активности с апреля по сентябрь.

Сбор клещей производился в следующих районах СПб: в Курортном районе в лесном массиве у поселка Лисий Нос и в садоводстве «Разлив», в Приморском районе в лесном массиве у железнодорожной станции Морская, в Пушкинском — Павловский парк, в Московском — лесной массив у Южного кладбища, в Колпинском — лесной массив у поселка Саперный, в Выборгском — лесной массив у Северного кладбища, в Петродворцовом — Бибигонское кладбище, государственный музей-заповедник «Ораниенбаум» около Китайского дворца.

Определение видового состава клещей проводилось методом микроскопии [26].

На наличие вируса КЭ было исследовано 5934 особей из 7025 клещей собранных на флаг и 111 820 — снятых с людей.

Для индикации вирусного антигена в клещах использован метод ИФА (в 1996–2015 гг.) с применением системы «ВектоВКЭ-антиген» (АО «Вектор-Бест», Россия) и ПЦР-анализ РНК вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) (в 2016 г.) с помощью системы «РеалБест РНК ВКЭ» (АО «Вектор-Бест», Россия).

На основании данных о количестве жителей СПб, пострадавших от клещей, рассчитывался показатель «покусанности» (число людей, подвергшихся нападению клещей, на 100 тыс. жителей). Анализ заболеваемости КЭ (количество случаев КЭ на 100 тыс. жителей) в СПб проведен на основании формы № 2 Государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» Управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу и отчетных данных паразитологического отдела ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург» за 1996–2016 гг.

Для оценки динамики изменений эпидемиологической ситуации по КЭ в городе за указанный период, он был разделен на 3 временных срока, по 7 лет каждый (1996–2002, 2003–2009 и 2010–2016 гг.).

В 2016 г. с целью выявления истинного инфицирования вирусом КЭ жителей СПб и Ленинградской области (ЛО), где горожане чаще всего подвергаются нападению клещей, было проведено обследование взрослого практически здорового невакцинированного населения на наличие IgG-антител к данному патогену. Всего было исследовано 220 сывороток иммуноферментным методом с использованием тест системы «ВектоВКЭ-IgG» (АО «Вектор-Бест», Россия).

Все полученные данные обработаны с помощью адекватных методов математической статистики. Доверительный интервал для средних значений рассчитывался с доверительным уровнем 95% ( $p = 0,05$ ).

## Результаты

Анализ результатов сбора клещей с растительности на территории периферийных районов СПб свидетельствует об их относительно невысокой численности. Средний показатель обилия клещей составил за 1996–2002 гг.  $6,38 \pm 3,28$ ; за 2003–2009 гг. —  $3,38 \pm 0,96$  и за 2010–2016 гг. —  $2,83 \pm 0,99$  клеща на 1 флаго-час, а за весь период наблюдений (1996–2016 гг.) —  $4,20 \pm 1,32$  клеща на 1 флаго-час.

Исследование видового состава собранных клещей позволило установить доминирование на территории СПб *I. persulcatus*. Помимо этого, встречались *I. ricinus*, их доля среди собранных клещей составила около 15%.

**Таблица 1. Показатель обилия клещей, собранных на флаг в различных районах Санкт-Петербурга в 1996–2016 гг.**

Table 1. Abundance rate of ticks collected on the flag in different districts of St. Petersburg in 1996–2016

Район District	Показатель обилия клещей, клещей/флаго-час Abundance rate of ticks, ticks/flag-hour		
	1996–2002	2003–2009	2010–2016
Курортный/Kurortnyi	5,82	5,80	3,51
Приморский/Primorskii	4,26	4,14	2,33
Пушкинский/Pushkinskii	8,48	2,33	1,05
Московский/Moskovskii	10,48	0,90	0,79
Колпинский/Kolpinski	4,48	2,07	0,88
Выборгский/Vyborgskii	0,75	0,42	0,34
Петродворцовый/Petrodvortsovyi	0,96	1,50	0,61
Красносельский/Krasnosel'skii	2,94	1,33	0,00
Красногвардейский/Krasnogvardeiskii	7,00	0,00	0,16

Клещи распространены на территории мегаполиса неравномерно. Наиболее заселенные клещами районы СПб — Курортный, Пушкинский, Приморский и, до 2002 г., Московский. В целом показатель обилия клещей снижался во всех районах города, однако, в Курортном и Приморском районах, где расположены основные рекреационные зоны города, активно посещаемые в весенне-летний сезон горожанами, снижение происходило медленнее (табл. 1).

Сезонная активности клещей в СПб началась в апреле и продолжалась до октября. Максимум активности половозрелых особей наблюдался, как правило, с мая (с 18–19 недели) и продолжался по июнь (8–9 недель). Средняя продолжительность периода активности половозрелых особей составляла около 180 дней и зависела от погодных условий летне-осеннего сезона.

На протяжении периода наблюдений отмечаются изменения инфицированности клещей. В 1996–2002 гг. среднемноголетняя зараженность клещей вирусом КЭ составляла  $0,80 \pm 0,41\%$ , а в 2010–2016 гг.  $0,14 \pm 0,19\%$ , то есть уменьшилась более чем в 5 раз. В то же время среднегодовая зараженность клещей, снятых с обратившихся за медицинской помощью людей, изменилась незначительно — с  $2,59 \pm 0,93\%$  до  $4,15 \pm 1,73\%$ .

За 1996–2016 гг. в СПб за медицинской помощью в связи с нападением клеща обрати-

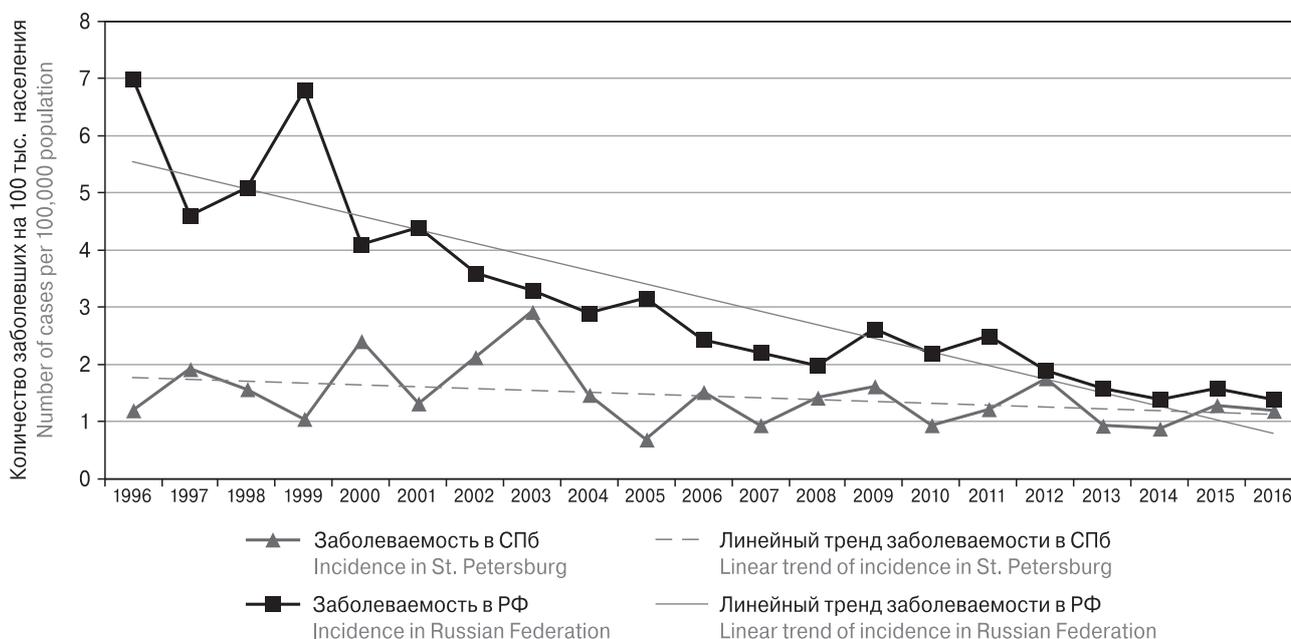
лось 226 451 человек, что в среднем составило  $10\,783,4 \pm 1837,4$  жителей в год. Среди них — 41 746 детей, что соответствует  $1987,9 \pm 274,2$  пострадавших детей ежегодно.

Среднемноголетняя «покусанность» жителей Санкт-Петербурга, как в городе, так и за его пределами, имеет явную тенденцию к росту: в 1996–2002 гг. этот показатель составил  $141,9 \pm 30,9$ , в 2003–2009 гг. —  $240,5 \pm 52,8$ , в 2010–2016 гг. —  $288,9 \pm 52,4$  на 100 тыс. населения. Среднемноголетний темп прироста — 4,52%.

В черте города население подвергается нападению клещей как в лесных массивах периферийных, так и в парках центральных районов. За период в 1996–2002 гг. среднегодовое количество пострадавших достигало  $829,6 \pm 176,2$  человек, в 2003–2009 гг. —  $1046,6 \pm 229,9$  (темп прироста — 26,2%), в 2010–2016 гг. —  $1123,9 \pm 215,1$  (темп прироста по сравнению с предыдущим периодом — 7,4%).

Наибольшая доля укушенных в черте города во все годы приходится на Курортный район (42,7%), значительно меньше — на Пушкинский (19,2%) и Приморский районы (16,9%), что составляет соответственно  $427,4 \pm 75,7$ ;  $91,7 \pm 32,0$  и  $168,9 \pm 35,0$  человек в год. В каждом из остальных районов города регистрируется не более 5,3% пострадавших.

Большинство заболевших КЭ, как и в предыдущие годы, подвергалось нападению клещей



**Рисунок 1. Динамика заболеваемости клещевым энцефалитом населения Санкт-Петербурга и РФ в 1996–2016 гг.**

Figure 1. The dynamics of the incidence of tick-borne encephalitis among the population of St. Petersburg and the Russian Federation in 1996–2016

**Таблица 2. Заболеваемость клещевым энцефалитом населения различных возрастных групп в Санкт-Петербурге в 1996–2016 гг.**

Table 2. The incidence of tick-borne encephalitis in different age groups in St. Petersburg in 1996–2016

Возрастная группа Age group	Дети 0–2 лет Children 0–2	Дети 3–6 лет Children 3–6	Дети 7–14 лет Children 7–14	Дети 15–19 лет Children 15–19	Взрослые 20–39 лет Adult 20–39	Взрослые 40–59 лет Adult 40–59	Взрослые 60 лет и старше Adult 60 and older
Число заболевших (%) Number of cases (%)	15 (1)	80 (6)	153 (11)	56 (4)	328 (24)	403 (30)	331 (24)
Количество заболевших на 100 тыс. населения данного возраста Number of cases per 100,000 population in certain age groups	0,5	2,5	2,7	1,1	1,0	1,3	1,5

и инфицировалось во время работы на дачных участках, при посещении кладбищ или во время отдыха на природе. Значительная часть жителей города была инфицирована в ЛО — 76,6%, при этом около 20% из них — при посещении садоводств. Часто заражение происходило за пределами города и ЛО (20,1%). В черте города было инфицировано 3,3% больных КЭ. В последние годы отмечается некоторое снижение доли заразившихся в ЛО с 82,6±3,1% в 1996–2002 гг. до 71,2±6,7% в 2010–2016 гг.

В 1996–2016 гг. КЭ в СПб заболело 1444 человека, что составило 0,6% от числа обратившихся за медицинской помощью в связи с нападением клеща. В этот период прослеживалась тенденция к снижению заболеваемости клещевым энцефалитом, как в СПб, так и в целом в РФ. Так, в СПб средний многолетний показатель заболеваемости в 1996–2002 гг. составлял 1,66±0,38, в 2003–2009 гг. — 1,51±0,52 (темпы убыли — 9,0%), в 2010–2016 гг. — 1,17±0,23 (темпы убыли — 22,5%). Заболеваемость в РФ снизилась с 5,09±0,98 в 1996–2002 гг. до 2,66±0,36 в 2003–2009 гг. (темпы убыли — 47,7%) и до 1,79±0,31 в 2010–2016 гг. (темпы убыли — 32,7%). Среднемноголетняя заболеваемость в исследуемый период в СПб была в 2,2 раза ниже, чем в РФ, и составила 1,45±0,23 на 100 тыс. населения, в то время как в РФ этот показатель достигал 3,18±0,70 (рис. 1).

Среди населения с профессиональным риском инфицирования больных зарегистрировано не было.

Летальность при КЭ в СПб в 1996–2016 гг. составила 1,37±0,86%.

КЭ регистрировался в СПб во всех возрастных группах. Наибольшую долю среди заболевших составляют взрослые (40–59 лет) жители СПб. Однако в пересчете на количество жителей соответствующих возрастов наибольшие показатели заболеваемости (на 100 тыс. жите-

лей данного возраста) регистрируются среди детей и подростков 3–14 лет (табл. 2).

Мужчины болеют КЭ чаще, чем женщины. Это отражается как в процентном соотношении среди общего числа заболевших (мужчины — 55,6±3,4%, женщины — 44,4±3,4%), так и в относительном количестве заболевших среди лиц своего пола (мужчины — 1,71±0,28 на 100 тыс. мужчин, женщины — 1,10±0,19 на 100 тыс. женщин).

Сезонное распределение больных КЭ соответствует сезонной активности клещей. Начало сезона регистрации больных КЭ приходится на апрель и заканчивается в сентябре. Большинство больных выявляется в мае и июне (39,2±3,4 и 27,1±2,8% соответственно). Период выявления больных составляет 6 месяцев (рис. 2).

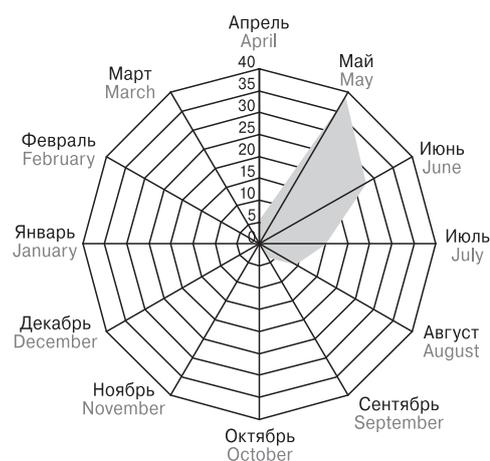
**Рисунок 2. Сезонное распределение случаев клещевого энцефалита в Санкт-Петербурге, %**

Figure 2. Seasonal distribution of cases of tick-borne encephalitis in 1996–2016 in St. Petersburg, %

Уровень иммунизации населения против КЭ имеет тенденцию к росту, но при этом все еще остается очень низким (среднепоколений показатель вакцинированных в 1996–2002 гг. —  $0,25 \pm 0,07\%$  от населения СПб, в 2003–2009 гг. —  $0,44 \pm 0,05\%$ , в 2010–2016 гг. —  $0,58 \pm 0,01\%$ , среднепоколений темп прироста в период в 1996–2016 гг. — 7,3%).

Проведенное в 2016 году обследование практически здорового и не вакцинированного взрослого населения СПб и ЛО выявило антигена к вирусу КЭ в 5,0 и 10,6% соответственно.

## Обсуждение

На территории периферических районов СПб существуют стойкие очаги КЭ, что отличает его от другого крупнейшего мегаполиса России — Москвы, где регистрируются лишь завозные случаи КЭ [6, 24]. Основным переносчиком КЭ в СПб являются клещи *I. persulcatus*, в меньшей степени — *I. ricinus*, что является характерным для большинства северо-западных территорий РФ, эндемичных по КЭ [18, 22]. Клещи распространены в биотопах мегаполиса весьма неравномерно, что обуславливает разную степень потенциальной опасности территории в отношении КЭ. На протяжении многих лет наибольшая численность клещей регистрируется в районах, примыкающих к северному побережью Финского залива (Курортный и Приморский районы) и в Пушкинском районе [22, 27].

По числу обращений за медицинской помощью в связи с нападением клеща лидируют те же районы: Курортный, Пушкинский и Приморский. Причиной этому может быть наиболее высокая заселенность клещами этих районов или социальные аспекты: Курортный и Приморский районы относятся к самым застраиваемым в СПб, а Пушкинский является крупнейшим районом с преимущественно малоэтажной застройкой и большим количеством парков и лесопарков, пригодных для обитания клещей. В первом случае биотопы исходных клещей формируются при застройке пустырей, леса, бывших сельскохозяйственных территорий и в сохранных зеленых насаждениях молодых микрорайонов, а во втором — в давно существующих парках и скверах [2]. Одновременно с биотопами клещей в городах формируются природные очаги клещевого энцефалита и других переносимых клещами болезней животных и человека [2, 9, 10, 14].

Динамика обращений за медицинской помощью имеет выраженную тенденцию к росту, как в целом по СПб, так и по большинству его

районов в отдельности. Аналогичная картина наблюдается и в другом крупном мегаполисе России — Москве [6, 24]. Объяснением роста числа обращений в медицинские учреждения по поводу укусов клещей может служить возросшая информированность населения об опасности заболеваний, передающихся через клещей-переносчиков, а также учащение контакта с природой в связи с увеличением количества автомобилей у населения и, соответственно, облегчением поездок на дачу, огород, рыбалку, охоту или за грибами и ягодами [5, 22, 23, 24].

Инфицированность вирусом клещевого энцефалита голодных клещей, собранных с растительности на флаге на различных территориях была невелика, она составляла в разные годы от  $0,80 \pm 0,41$  до  $0,14 \pm 0,19\%$  и имела тенденцию к снижению. В то же время инфицированность клещей, снятых с людей, была значительно выше, чем голодных имаго, это согласуется с данными других исследователей констатировавших, что частота заражения клещей и концентрация вируса возрастала пропорционально их напитанности [11].

По уровню средних многолетних показателей ( $1,45 \pm 0,23$  на 100 тыс. населения) СПб можно отнести к субъектам с низким уровнем заболеваемости [18], например к таким, как сопредельная Финляндия, где по данным 2000–2012 гг. заболеваемость составила 0,50 на 100 тыс. населения, в то время как на других территориях она была значительно выше (в Эстонии — 13,41, в Латвии — 13,19, в Литве — 12,05 на 100 тыс. населения) [1].

Летальность при КЭ в СПб в период наблюдений была стабильной — 1,37%. Для сравнения, в СЗФО в 2009–2013 гг. летальность достигала 1,9% [19], а в высокоэндемичной по КЭ Ярославской области в 1992–2012 гг. — почти 4% [8].

Наиболее уязвимой возрастной группой населения в СПб являются дети и подростки 3–14 лет, что свидетельствует о необходимости проведения информирования об опасности заболевания КЭ и способах специфической и неспецифической защиты среди детей и подростков и их родителей.

Как и на большинстве территорий СЗФО в структуре заболевших КЭ в СПб в 1996–2016 гг. преобладают мужчины ( $55,6 \pm 3,4\%$ ), что объясняется более частым контактом с местами обитания клещей в связи с большей склонностью мужчин к рыбалке, охоте, сбору грибов и длительным походам [22].

Инфицирование жителей города вирусом КЭ, как и в предыдущие годы, происходило в основном в ЛО [4]. Однако в период с 1996

по 2016 г. выросла доля заболевших, инфицированных в черте города, что объясняется активной застройкой территорий пригородных районов, ранее занятых лесными массивами или пустырями с кустарником — местами обитания клещей [9, 10]. Поскольку все же подавляющее большинство заболевших КЭ инфицируется в ЛО, для существенного снижения заболеваемости КЭ необходима разработка совместного комплексного плана мероприятий по контролю за этой инфекцией, включающего мониторинг природных очагов, серологическое обследование здоровых жителей города и области и регистрацию больных КЭ со сбором подробного эпидемиологического анамнеза [20].

Сезонное распределение больных клещевым энцефалитом в СПб не отличается от других территорий РФ, оно имеет весенне-летнюю сезонность и продолжается с апреля по сентябрь [15].

Уровень иммунизации имеет тенденцию к росту, хотя и остается невысоким, что демонстрирует необходимость усиления пропаганды вакцинации против КЭ, в особенности среди родителей детей в возрасте 3–14 лет. Об эффективности применения вакцины против КЭ свидетельствует отсутствие заболеваний среди контингента повышенного риска инфицирования, связанного с профессией, который подвергается обязательной иммунизации.

Обнаружение антител к вирусу КЭ у 5,0% практически здоровых и невакцинированных жителей Санкт-Петербурга существенно дополняет данные официальной регистрации этой инфекции и позволяет получить более правильное представление о ее реальном распространении.

В ходе исследования выявлены две противоположные тенденции, существенно влияющие на заболеваемость КЭ в Санкт-Петербурге. С одной стороны происходит снижение показателей обилия клещей и их инфицированности в природе. С другой стороны территории, расположенные по периферии мегаполиса, в рекреационных зонах, на которых в насто-

ящее время ведется интенсивное строительство, характеризуются значительным уровнем численности переносчиков и ростом числа пострадавших от них горожан и, соответственно, потенциальной опасностью и высоким риском заражения КЭ [27]. Это обуславливает более медленный темп снижения заболеваемости КЭ по сравнению с РФ.

## Выводы

В Санкт-Петербурге — мегаполисе, расположенном на эндемичной по КЭ территории, — жители могут подвергаться присасыванию клещей и, вследствие этого, инфицированию вирусом КЭ не только при выезде на природу и в лес, но и в самом городе в его лесопарковых зонах, а также в районах, где ведется активная застройка на местах зеленых насаждений.

Переносчиками вируса КЭ в Санкт-Петербурге являются клещи рода *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus*, причем *I. persulcatus* являются доминирующим видом.

Число обращений за медицинской помощью по поводу присасывания клещей в СПб растет, однако заболеваемость имеет тенденцию к снижению, но с меньшим темпом, чем по России в целом.

Основной группой риска заболевания КЭ являются дети 3–14 лет, поэтому профилактические мероприятия в первую очередь должны быть направлены на эту возрастную группу.

Уровень иммунизации населения Санкт-Петербурга против КЭ постепенно растет, но все еще остается невысоким. Однако отсутствие среди профессиональных групп риска заболевших КЭ говорит об эффективности профилактики, проводимой в этих группах.

Несмотря на невысокие показатели заболеваемости, проблема КЭ в Санкт-Петербурге остается актуальной и требует постоянных эпидемиологических наблюдений, необходимых для разработки стратегических направлений профилактики инфекций, передающихся клещами.

## Список литературы/References

1. Андаев Е.И., Трушина Ю.Н., Сидорова Е.А., Мельникова О.В., Носков А.К., Адельшин Р.В., Яковчиц Н.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту на приграничных территориях Российской Федерации // Здоровье населения и среда обитания. 2014. № 12 (261). С. 30–33. [Andaev E.I., Trushina Yu.N., Sidorova E.A., Melnikova O.V., Noskov A.K., Adelshin R.V., Yakovchits N.V. Epidemiological situation for tick-borne encephalitis virus in frontier territories of the Russian Federation. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*, 2014, no. 12 (261), pp. 30–33. (In Russ.)]
2. Белименко В.В., Христиановский П.И. Закономерности формирования биотопов иксодовых клещей и риск-ориентированный мониторинг клещевых болезней на урбанизированных территориях // Российский ветеринарный журнал. 2016. № 4. С. 5–8. [Belimenko V.V., Christianovsky P.I. Patterns formation of hard ticks biotopes and risk based monitoring of tick borne diseases for urban areas. *Rossiiskii veterinarnyi zhurnal = Russian Veterinary Journal*, 2016, no. 6, pp. 5–8. (In Russ.)]

3. Беспятова Л.А., Бугмырин С.В., Коротков Ю.С., Иешко Е.П. Природные очаги клещевого энцефалита на северо-западной периферии обитания таежного клеща (*Ixodes persulcatus* Schulze, 1930) // Труды Карельского научного центра Российской Академии Наук. 2009. № 4. С. 96–101. [Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V., Korotkov Y.S., Ieshko E.P. Natural foci of tick-borne encephalitis at the north-western limit of *Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930) range. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi Akademii Nauk = Works of the Karelian Research Center of Russian Academy of Sciences*, 2009, no. 4, pp. 96–101. (In Russ.)]
4. Богачкина С.И., Ракитин И.А., Мельцер А.В., Чхинджерия И.Г. Организация и проведение в Санкт-Петербурге мероприятий профилактики инфекций, передающихся клещами // Инфекция и иммунитет. 2012. Т. 2, № 1–2. С. 119–120. [Bogachkina S.I., Rakitin I.A., Melzer A.V., Chkhindzheriya I.G. Organization and realization of preventive tick-borne infection prevention activities in St. Petersburg. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2012, vol. 2, no. 1–2, pp. 119–120. (In Russ.)]
5. Ватулина Е.Я., Леванчук А.В., Леванчук Л.А., Курепин Д.Е. Графическое представление результатов исследования экологической нагрузки на урбанизированную территорию при воздействии транспортных потоков // Наукovedenie. 2016. Т. 8, № 2 (33). С. 100. [Vatulina E.Ya., Levanchuk A.V., Levanchuk L.A., Kurepin D.E. Graphic representation of the results of the research of the ecological load on urbanized territory under the influence of traffic flows. *Naukovedenie = Scientology*, 2016, vol. 8, no. 2 (33), pp. 100. doi: 10.15862/94TVN216 (In Russ.)]
6. Веригина Е.В., Иваницкий А.В., Чернявская О.П., Зароченцев М.В., Таблер М.В., Сапунова Н.Н. Актуальные вопросы мониторинга за инфекциями, переносимыми клещами // Здоровье населения и среда обитания. 2012. № 10. С. 33–36. [Verigina E.V., Ivanitsky A.V., Chernyavskaya O.P., Zarochentsev M.V., Tabler M.V., Sapunova N.N. Actual issues of monitoring for tick-borne infections. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*, 2012, no. 10, pp. 33–36. (In Russ.)]
7. Гайворонская А.Г., Галицкая М.Г., Намазова-Баранова Л.С. Этиология, клинические проявления, лечение и профилактика клещевого энцефалита // Педиатрическая фармакология. 2013. Т. 10, № 2. С. 34–39. [Gaivoronskaya A.G., Galitskaya M.G., Namazova-Baranova L.S. Etiology, clinical manifestations, treatment and prevention of tick-borne encephalitis. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2013, vol. 10, no. 2, pp. 34–39. doi: 10.15690/pf.v10i2.642 (In Russ.)]
8. Герасимов С.Г., Дружинина Т.А., Карань Л.С., Колясникова Н.М., Баранова Н.С., Левина Л.С., Маленко Г.В., Погодина В.В., Бочкова Н.Г. Особенности клещевого энцефалита в Ярославской области на современном этапе. Проблема эволюции инфекции // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2014. Т. 19, № 4. С. 37–44. [Gerasimov S.G., Druzhinina T.A., Karan L.S., Kolyasnikova N.M., Baranova N.S., Levina L.S., Malenko G.V., Pogodina V.V., Bochkova N.G. Features of tick-borne encephalitis in the Yaroslavl region at the present stage. The problem of the evolution of infection. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2014, vol. 19, no. 4, pp. 37–44. (In Russ.)]
9. Голубкова А.А., Дорогина Ю.В., Корначев А.С. Характеристика эпидемического процесса клещевого энцефалита и клещевых боррелиозов в сочетании очаге на территории мегаполиса. Пути инфицирования // Медицинский альманах. 2012. № 3. С. 100–103. [Golubkova A.A., Dorogina Yu.V., Kornachev A.S. Features of the epidemic process of tick-borne encephalitis and tick-borne borreliosis in the combined focus on the territory of the megalopolis. Ways of infection. *Meditsinskii al'manakh = Medical Almanac*, 2012, no. 3, pp. 100–103. (In Russ.)]
10. Дорогина Ю.В., Голубкова А.А. Некоторые эколого-эпидемиологические характеристики сочетанного очага клещевого энцефалита (КЭ) и иксодовых клещевых боррелиозов в условиях мегаполиса // Инфекция и иммунитет. 2012. Т. 2, № 1–2. С. 139–139. [Dorogina Yu.V., Golubkova A.A. Some ecological and epidemiological characteristics of the combined focus of tick-borne encephalitis (TBE) and ixodic tick-borne borrelioses in a megalopolis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2012, vol. 2, no. 1–2, pp. 139–139. (In Russ.)]
11. Козлова И.В., Злобин В.И., Верхозина М.М. Современные подходы к экстренной специфической профилактике клещевого энцефалита // Вопросы вирусологии. 2007. № 6. С. 25–30. [Kozlova I.V., Zlobin V.I., Verkhozina M.M. Modern approaches to emergency specific preventive of tick-borne encephalitis. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, Russian Journal*, 2007, no. 6, pp. 25–30. (In Russ.)]
12. Колясникова Н.М., Авксентьев Н.А., Авксентьева М.В., Деркач Е.В., Платонов А.Е. Социально-экономическое бремя клещевого энцефалита в Российской Федерации // Медицинские технологии. Оценка и выбор. 2013. № 3. С. 56–69. [Kolyasnikova N.M., Avksentyev N.A., Avksentyeva M.V., Derkach E.V., Platonov A.E. The social and economic burden of tick-borne encephalitis in the Russian Federation. *Meditsinskije tekhnologii. Otsenka i vybor = Medical Technologies. Evaluation and Selection*, 2013, no. 3, pp. 56–69. (In Russ.)]
13. Конькова-Рейдман А.Б., Злобин В.И. Клинико-эпидемиологическая характеристика клещевого энцефалита на Южном Урале // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2011. Т. 103, № 4. С. 92–95. [Konkova-Reidman A.B., Zlobin V.I. Clinical and epidemiological characteristics of tick-borne encephalitis in the Southern Urals. *Sibirskii meditsinskii zhurnal (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk)*, 2011, vol. 103, no. 4, pp. 92–95. (In Russ.)]
14. Медведев С.Г., Шапарь А.О., Григорьева Л.А., Осипова Т.Н., Самойлова Е.П. Биологические риски развития агломерации Санкт-Петербурга и Ленинградской области // Ученые записки Российского государственного гидрометеорологического университета. 2016. № 43. С. 223–235. [Medvedev S.G., Shapar A.O., Grigorieva L.A., Osipova T.N., Samoilova E.P. Biological risks of the development of agglomeration of St. Petersburg and the Leningrad region. *Uchenye zapiski Rossiiskogo gosudarstvennogo gidrometeorologicheskogo universiteta = Scientific Notes of the Russian State Hydrometeorological University*, 2016, no. 43, pp. 223–235. (In Russ.)]
15. Никитин А.Я., Андаев Е.И., Носков Н.Д., Пакскина Н.Д., Яценко Е.В., Веригина Е.В., Балахонov С.В. Особенности эпидемической ситуации по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2017 г. и прогноз ее развития на 2018 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2018. Вып. 1. С. 44–49. [Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Noskov N.D., Pakschina N.D., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Peculiarities of the epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2017 and the forecast for 2018. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2018, vol. 1, pp. 44–49. doi: 10.21055/0370-1069-2018-1-44-49 (In Russ.)]

16. Никитин А.Я., Носков А.К., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Веригина Е.В., Балахонов С.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2015 и прогноз на 2016 год // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 1. С. 40–43. [Nikitin A.Ya., Noskov A.K., Andaev E.I., Pakskina N.D., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2015 and prognosis for 2016. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2016, no. 1, pp. 40–43. doi: 10.21055/0370-1069-2016-1-40-43 (In Russ.)]
17. Носков А.К., Ильин В.П., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Веригина Е.В., Балахонов С.В. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом в Российской Федерации и по федеральным округам в 2009–2013 гг., эпидемиологическая ситуация в 2014 г. и прогноз на 2015 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2015. № 1. С. 46–50. [Noskov A.K., Ilyin V.P., Andaev E.I., Pakskina N.D., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Morbidity rates as regards tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation and across Federal Districts in 2009–2013. Epidemiological situation in 2014 and prognosis for 2015. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2015, no. 1, pp. 46–50. doi: 10.21055/0370-1069-2015-1-46-50 (In Russ.)]
18. Носков А.К., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Яценко Е.В., Веригина Е.В., Инокентьева Т.И., Балахонов С.В. Клещевой вирусный энцефалит в Российской Федерации: особенности эпидемического процесса в период устойчивого спада заболеваемости, эпидемиологическая ситуация в 2016 г., прогноз на 2017 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 1. С. 37–43. [Noskov A.K., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Pakskina N.D., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Inokenteva T.I., Balakhonov S.V. Tick-borne virus encephalitis in the Russian Federation: features of epidemic process in steady morbidity decrease period. Epidemiological condition in 2016 and the forecast for 2017. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2017, no. 1, pp. 37–43. doi: 10.21055/0370-1069-2017-1-37-43 (In Russ.)]
19. Платонов А.Е., Авксентьев Н.А., Авксентьева М.В., Деркач Е.В., Платонова О.В., Титков А.В., Колясникова Н.М. Социально-экономическое бремя пяти природно-очаговых инфекций в Российской Федерации // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2015. Т. 8, № 1. С. 47–56. [Platonov A.E., Avksentyev N.A., Avksentyeva M.V., Derkach E.V., Platonova O.V., Titkov A.V., Kolyasnikova N.M. Social and economic burden of five natural focal infections in the Russian Federation. *Farmakoekonomika. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya = Pharmacoeconomics. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*, 2015, vol. 8, no. 1, pp. 47–56. doi: 10.17749/2070-4909.2015.8.1.047-056 (In Russ.)]
20. Рахманова А.Г., Шербак Н.Я., Козловская Е.В., Андреева Н.В., Улюкин И.М. Профилактика клещевого энцефалита и иксодовых клещевых боррелиозов в условиях мегаполиса // Здоровье — основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2015. Т. 10, № 1. С. 404–405. [Rakhmanova A.G., Shcherbak N.Ya., Kozlovskaya E.V., Andreeva N.V., Ulyukin I.M. Prevention of tick-borne encephalitis and ticks Lyme borreliosis in a metropolis. *Zdorov'e — osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniya = Health — the Basis of Human Potential: Problems and Ways to Solve Them*, 2015, vol. 10, no. 1, pp. 404–405. (In Russ.)]
21. Рудаков Н.В., Ястребов В.К., Рудакова С.А. Эпидемиология, лабораторная диагностика и профилактика клещевых трансмиссивных инфекций человека на территориях с различной степенью риска заражения населения // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014. № 5 (78). С. 30–35. [Rudakov N.V., Yastrebov V.K., Rudakova S.A. Epidemiology, laboratory diagnostics and prevention of tick-borne transmission infections in humans in areas with varying degrees of risk of infection of the population. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*, 2014, no. 5 (78), pp. 30–35. (In Russ.)]
22. Токаревич Н.К., Стоянова Н.А., Грачева Л.И., Трифонова Г.Ф., Тронин А.А., Шумилина Г.М., Глушкова Л.И., Галимов Р.Р., Митина Т.П., Рочева Г.Н., Федькина Т.В., Сафонова Н.М., Бузинов Р.В., Котов В.М., Волощук М.В., Пятовская А.А., Флягина А.Н., Лесникова М.В., Титова Н.М., Маликова Э.В., Антыкова Л.П., Бычкова Е.М., Шапарь А.О., Пьяных В.А., Игнатьева В.Н., Емельянова О.Н., Никифоров С.В., Александрова Т.В., Груздова В.И., Груничева Т.П., Селюк В.Н., Баяра Е.А., Труханова Л.П. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Северо-Западном федеральном округе России. Аналитический обзор. СПб.: Феникс, 2008. 120 с. [Tokarevich N.K., Stoyanova N.A., Gracheva L.I., Trifonova G.F., Tronin A.A., Shumilina G.M., Glushkova L.I., Galimov R.R., Mitina T.P., Rocheva G.N., Fedkina T.V., Safonova N.M., Buzinov R.V., Kotov V.M., Voloshchuk M.V., Pyatovskaya A.A., Flyagina A.N., Lesnikova M.V., Titova N.M., Malikova E.V., Antykova L.P., Bychkova E.M., Shapar A.O., Pyanykh V.A., Ignatieva V.N., Yemelyanova O.N., Nikiforov S.V., Aleksandrova T.V., Gruzdova V.I., Grunicheva T.P., Selyuk V.N., Bajura E.A., Trukhanova L.P. Ixodes tick-borne infections in the North-West Federal District of Russia. Analytical review. *St. Petersburg: Phoenix*, 2008. 120 p. (In Russ.)]
23. Щучинова Л.Д., Злобин В.И. Социальные факторы, определяющие заболеваемость клещевым энцефалитом в Республике Алтай // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2014. Т. 124, № 1. С. 78–80. [Schuchinova L.D., Zlobin V.I. Social factors determining the incidence of tick-borne encephalitis in the Altai Republic. *Sibirskii meditsinskii zhurnal (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk)*, 2014, vol. 124, no. 1, pp. 78–80. (In Russ.)]
24. Янковская Я.Д., Чернобровкина Т.Я., Онухова М.П., Володина В.Н., Булова С.В., Никифоров В.В., Кардонова Е.В. Некоторые эпидемиологические аспекты инфекций, передающихся иксодовыми клещами, на территории мегаполиса // Архив внутренней медицины. 2017. № 6 (38). С. 423–432. [Yankovskaya Ya.D., Chernobrovkina T.Ya., Onukhova M.P., Volodina V.N., Burova S.V., Nikiforov V.V., Kardonova E.V. Some epidemiological aspects of tick-borne infections in the megapolis. *Arkhiv vnutrennei meditsiny = Archive of Internal Medicine*, 2017, no. 6 (38), pp. 423–432. doi: 10.20514/2226-6704-2017-7-6-423-432 (In Russ.)]
25. Ястребов В.К., Рудаков Н.В., Шпынов С.Н. Трансмиссивные клещевые природно-очаговые инфекции в Российской Федерации: тенденции эпидемического процесса, актуальные вопросы профилактики // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2012. № 4. С. 91–93. [Yastrebov V.K., Rudakov N.V., Shpynov S.N. Transmissible tick-borne focal infections in the Russian Federation: trends in the epidemic process, current issues of prevention. *Sibirskii meditsinskii zhurnal (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk)*, 2012, no. 4, pp. 91–93. (In Russ.)]

26. Filippova N.A. Ixodid ticks subfamily Ixodinae. Arachnida. IV. Fauna of the USSR. 1<sup>st</sup> ed. *Leningrad: Nauka Press, 1977.*
27. Tokarevich N.K., Tronin A.A., Blinova O.V., Buzinov R.V., Boltakov V.P., Yurasova E.D., Nurse J. The impact of climate change on the expansion of *Ixodes persulcatus* habitat and the incidence of tickborne encephalitis in the north of European Russia. *Global Health Action, 2011, vol. 4, pp. 1–11. doi: 10.3402/gha.v4i0.8448*

**Авторы:**

**Сюзюмова Е.А.**, младший научный сотрудник лаборатории зооантропонозных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Тельнова Н.В.**, к.м.н., заместитель начальника отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу, Санкт-Петербург, Россия;

**Шапарь А.О.**, зав. отделом паразитологии Центра государственного санитарно-эпидемиологического надзора г. Санкт-Петербурга, Санкт-Петербург, Россия;

**Асланов Б.И.**, д.м.н., доцент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

**Стоянова Н.А.**, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории зооантропонозных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Токаревич Н.К.**, д.м.н., профессор, зав. лабораторией зооантропонозных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Siuziumova E.A.**, Junior Researcher, Laboratory of Zoonoses, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

**Telnova N.V.**, PhD (Medicine), Deputy Head of the Epidemiological Supervision Department of the Directorate of the Rospotrebnadzor for St. Petersburg, St. Petersburg, Russian Federation;

**Shapar A.O.**, Head of Parasitological Department, Center of State Sanitary and Epidemiological Surveillance, St. Petersburg, Russian Federation;

**Aslanov B.I.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

**Stoyanova N.A.**, PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Zoonoses, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Tokarevich N.K.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Zoonoses, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Professor, Department of Epidemiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 25.12.2018  
Отправлена на доработку 20.05.2019  
Принята к печати 04.06.2019

Received 25.12.2018  
Revision received 20.05.2019  
Accepted 04.06.2019

# ОСОБЕННОСТИ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ *HELICOBACTER PYLORI*, У ДЕТЕЙ

Ш.Т. Турдиева, Э.А. Шамансурова

Ташкентский педиатрический медицинский институт, Ташкент, Узбекистан

**Резюме.** Целью исследования являлось изучение особенностей эндоскопической картины слизистой слоя верхних отделов пищеварительного тракта при хронической гастродуоденальной патологии (ХГДП), ассоциированной с *Helicobacter pylori*, у детей. **Материалы и методы.** Всего обследовано 286 пациентов в возрасте от 6 до 15 лет. Основой диагностики хронической гастродуоденальной патологии являлись анамнестические данные и результаты инструментально-функциональных исследований, таких как фракционное зондирование, эзофагогастродуоденоскопия (ЭФГДС) с эндоскопической рН-метрией без взятия биоптата, ультразвуковое исследование органов брюшной полости. Исследование на инфицированность *H. pylori* проводилось с помощью двух методов: уреазного дыхательного теста и иммунохроматографического теста кала. **Результаты.** Выявляемость *H. pylori* при ХГДП у детей наиболее высока среди пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки (до 87,5%,  $p < 0,05$ ). Основными эндоскопическими признаками наличия воспаления слизистой слоя желудка и двенадцатиперстной кишки являлись отек, гиперемия и контактная кровоточивость, местное кровоизлияние. Атрофические поражения слизистой слоя характеризовались ее истончением, бледностью на фоне просвечивания сосудов подслизистого слоя. Для неатрофического антрального гастрита были характерны замедление эвакуации из желудка, антральный стаз и спазм привратника. Для хронического атрофического гастрита более характерными являлись гипотония желудочной стенки, наличие дуоденогастрального рефлюкса и снижение моторики. Основным эндоскопическим отличием у пациентов, инфицированных *H. pylori*, от неинфицированных было превалирование атрофических изменений в сочетании с гастродуоденальным рефлюксом (77,6%,  $p < 0,05$ ). **Выводы.** У детей с ХГДП инфицированность *H. pylori* более высока среди пациентов с язвенными поражениями желудка или двенадцатиперстной кишки, чем среди пациентов с воспалительными заболеваниями ( $p < 0,05$ ). Обнаруживаемые при эндоскопическом исследовании атрофические изменения в сочетании с гастродуоденальным рефлюксом 4-кратно преобладают у пациентов, инфицированных *H. pylori*, в сравнении с неинфицированными пациентами ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** *Helicobacter pylori*, гастродуоденальная патология, дети, подростки, хронический гастрит, язва желудка.

## FEATURES OF THE ENDOSCOPIC PICTURE IN PAEDIATRIC GASTRODUODENAL DISEASES CAUSED BY *HELICOBACTER PYLORI*

Turdieva Sh.T., Shamansurova E.A.

Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan

**Abstract.** The aim of the study was to examine the features of the endoscopic picture in the upper digestive tract mucosa in paediatric chronic gastroduodenal pathology (CGDP) associated with *Helicobacter pylori*. **Materials and methods.** There

### Адрес для переписки:

Турдиева Шохида Толкуновна  
100140, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. Боги-шамол, 223,  
Ташкентский педиатрический медицинский институт.  
Тел.: + 998 93 587-25-70 (моб.).  
E-mail: shohidahon69@mail.ru

### Contacts:

Shakhida T. Turdieva  
100140, Uzbekistan, Tashkent, Bogishamol str., 223,  
Tashkent Pediatric Medical Institute.  
Phone: + 998 93 587-25-70 (mobile).  
E-mail: shohidahon69@mail.ru

### Библиографическое описание:

Турдиева Ш.Т., Шамансурова Э.А. Особенности эндоскопической картины гастродуоденальных заболеваний, вызванных *Helicobacter pylori*, у детей // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 543–550. doi: 10.15789/2220-7619-FOT-1249

### Citation:

Turdieva Sh.T., Shamansurova E.A. Features of the endoscopic picture in paediatric gastroduodenal diseases caused by *Helicobacter pylori* // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 543–550. doi: 10.15789/2220-7619-FOT-1249

were examined 286 patients, aged 6–15 years. Diagnostic criteria for chronic gastroduodenal pathology were anamnestic as well as instrumental and functional studies data: gastric fractional intubation, esophagogastroduodenoscopy (EPGDS) with endoscopic pH-metry without biopsy, and ultrasound examination of abdominal organs. *H. pylori* testing was carried out by two unrelated methods such as respiratory test and a immunochromatographic fecal test. **Results.** Detection of *H. pylori* in children with CGDP peaked in patients with peptic gastric and duodenal ulcer (up to 87.5%,  $p < 0.05$ ). The main endoscopic signs were edema, hyperaemia and contact bleeding, as well as local haemorrhage were the major endoscopic signs of inflammation in the stomach and duodenum mucosa. Atrophic mucosal lesions were characterized by thinning, pale colour together with transilluminated submucosal vessels. Non-atrophic antral gastritis was featured with delayed gastric emptying, antral stasis and pyloric spasm. In contrast, hypotension of the gastric wall, duodenogastric reflux and decreased motility were more typical to chronic atrophic gastritis. Major endoscopic feature in patients with *H. pylori* infection was presented by dominant atrophic changes combined with gastroduodenal reflux (77.6%,  $p < 0.05$ ) compared to patients without *H. pylori* infection. **Conclusion.** Detection of HP infection was peaked in children with CGDP coupled to peptic ulcer disease compared to patients with inflammatory diseases ( $p < 0.05$ ). Endoscopic examination in HP-positive patients showed that atrophic changes were found by 4-fold more frequently together with gastroduodenal reflux compared to patients without HP infection ( $p < 0.05$ ).

**Key words:** *Helicobacter pylori*, gastroduodenal pathology, children, adolescents, chronic gastritis, stomach ulcer.

Своевременная диагностика и оценка эффективности лечения детей с хронической гастродуоденальной патологией (ХГДП) остается одной из наиболее актуальных проблем современной детской гастроэнтерологии [6]. Учитывая высокую значимость *Helicobacter pylori* (HP) как одного из предикторов ХГДП, эффективное лечение данной инфекции является одним из приоритетных направлений в области инфекционных заболеваний и гастроэнтерологии [8, 10]. В частности, по данным российских исследователей, частота HP-инфицированности у детей в различных регионах России варьируется от 41,2 до 86,3% [4, 11, 15]. В странах Европы данный показатель составляет от 3,2 до 48%, в США — от 24 до 80% [1]. При этом остается актуальной проблема изучения особенностей клинико-инструментальных исследований HP-ассоциированных ХГДП среди детского населения.

Целью исследования являлось изучение особенностей эндоскопической картины слизистой слоя верхних отделов пищеварительного тракта при хронической гастродуоденальной патологии, ассоциированной с *H. pylori*, у детей.

## Материалы и методы

Было обследовано 286 детей и подростков в возрасте от 6 до 15 лет (средний возраст —  $11,6 \pm 2,17$  лет) с ХГДП, проживающих в городе Ташкенте. Всего обследован 211 пациентов мужского пола (53,28%), и 185 — женского (46,72%). Исследование проводилось в поликлинике при Ташкентском педиатрическом медицинском институте. Критериями диагностики ХГДП являлись: данные анамнеза жизни и болезни пациентов; результаты инструментально-функционального обследования (исследование желудочной секреции — фракционное зондирование, эзофагогастродуоденоскопия (ЭФГДС)

с pH-метрией («Гастроскан-ИАМ»), ультразвуковое исследование абдоминальных органов; данные лабораторной диагностики (общий анализ крови, анализ кала на яйца гельминтов). Исследование на HP-инфицированность основывалось на качественном определении данного возбудителя с помощью двух методов: уреазного дыхательного теста (тест-система ХЕЛИК® с индикаторной трубкой производства ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики», Россия) и иммунохроматографического теста кала «*Helicobacter pylori*» (РЭД, Россия). Исходя из задач исследования, количественное определение возбудителя не проводилось. Пациент считался HP-инфицированным при положительном результате обоих тестов. При положительном результате только одного теста пациент для окончательного установления диагноза направлялся на определение концентрации антител класса IgG к антигенам *H. pylori* в сыворотке крови иммуноферментным методом.

Эндоскопическая картина слизистой оболочки желудка (СОЖ) оценивалась по критериям общепринятой Сиднейской классификации (1990 г., с модификацией 1996 г.). Эндоскопическое исследование проводилось без взятия биоптата в соответствии с рекомендациями European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) и North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) (2017) об ограничении биопсии у детей, за исключением случаев наличия метапластических изменений [20]. В ходе исследования были определены наиболее часто встречающиеся клинические формы ХГДП, которые классифицировались согласно МКБ-10: хронический гастродуоденит (ХГД) (К 29.9) был диагностирован у 174 (60,84%) пациентов, различные варианты хронического гастрита (ХГ) (К 29.3-5) — у 43 (15,03%), хронический дуоденит (ХД) (К 29.8) — у 22 (7,69%),

язвенная болезнь желудка (ЯБЖ) (К 25) — у 8 (2,8%) и язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ЯБ ДПК) (К 26) — у 39 (13,64%) пациентов из 286 обследованных.

В зависимости от наличия НР-инфицированности все пациенты были разделены две группы: I группа — пациенты с НР-инфицированностью — 165 человек (57,7%), II группа — пациенты без НР-инфицированности — 121 (42,3%) человек. Все исследования проводились с разрешения Этического Комитета при Министерстве Здравоохранения Республики Узбекистан (протокол № 3, от 20.04.2017 г.) после получения письменного согласия родителей (или опекунов) обследуемых детей. Все результаты исследования одновременно фиксировались в амбулаторной карте пациентов. Проводилась математико-статистическая обработка данных с использованием программы Microsoft Excel 7.0 для Windows XP с определением средней арифметической (M) и среднеквадратического отклонения (s). Для оценки статистической значимости различий использовали t-критерий Стьюдента, с определением границ доверительного интервала на основании таблицы распределения по Стьюденту. Полученные результаты оценивались как статистически значимые при уровне вероятности  $p < 0,05$ . Сравнение проводилось между группами инфицированных и не инфицированных *H. pylori* пациентов.

## Результаты

Как сказано выше, НР-инфицированность установлена у 57,7% ( $n = 165$ ) пациентов. Обнаружено, что среди пациентов с ХГДП наиболее высокий показатель выявляемости *H. pylori* наблюдаются при ЯБЖ и ЯБДПК — 71,79 и 87,50% соответственно, самый низкий — при ХД (45,45%). При этом отмечено, что показатель НР-инфицированности выше у пациентов с язвенными поражениями ЖКТ, чем у пациентов с воспалительными заболеваниями (в среднем 1:0,6).

Эзофагогастродуоденоскопия была проведена всем пациентам с ХГДП ( $n = 286$ ). Описание эндоскопического исследования начинали с пищеводного отдела ЖКТ. При этом у 48,6% ( $n = 139$  из 286) пациентов было определено наличие патологии пищевода в виде эзофагита, из них у 96,40% ( $n = 134$  из 139) — в сочетании с гастроэзофагеальным рефлюксом (ГЭР). Всего у 46,85% ( $n = 134$  из 286) пациентов диагностирован ГЭР. По результатам нашего исследования, чаще всего ГЭР отмечали среди пациентов с ЯБЖ — 80% ( $n = 6$  из 8) и ХГ — 67,4% ( $n = 29$  из 43), реже всего — у пациентов с ХД — 18,2% ( $n = 4$  из 22) и ЯБ ДПК — 7,69%

( $n = 3$  из 39). Если рассмотреть полученные данные в зависимости от НР-инфицированности, то отмечается превалирование ГЭР у пациентов с НР-инфицированностью. В частности, среди пациентов с ГЭР у 77,61% ( $n = 104$  из 134) диагностировалась НР-инфицированность (см. табл.).

Дуоденогастральный рефлюкс (ДГР) также являлся одним из наиболее часто встречаемых эндоскопических признаков ХГДП у школьников — 16,01% ( $n = 46$  из 286). Дуоденогастральный рефлюкс у пациентов с ХГД диагностирован в 12,7% ( $n = 22$  из 174) случаев. При этом ДГР в отличие от ГЭР чаще всего был отмечен среди больных с ЯБ ДПК — 52,9% ( $n = 9$  из 17) и ХД — 27,3% ( $n = 6$  из 22). Если рассмотреть встречаемость ДГР в зависимости от НР-инфицированности, то можно констатировать, что 67,39% пациентов с ДГР инфицированы *H. pylori*. В то же время полученные данные показали, что встречаемость НР-инфицированности варьирует в зависимости от клинической формы ХГДП. В частности, встречаемость НР-инфицированности при ХГ намного выше, чем при ХД (58,1% против 45,5%). Данный факт может быть связан с биоциклом НР, так как являясь условно аэробным микроорганизмом, он, в основном, обнаруживается на поверхности слизистой оболочки антрального отдела желудка, что и подтверждается нашими исследованиями.

Эзофагогастродуоденоскопическое исследование позволило описать общую картину воспаления, его локализацию, характер распространенности и признаки атрофии (или гипертрофии) слизистой. В частности, у пациентов с ХГД превалировало неатрофическое антральное поражение ( $n = 174$ ; 78,16%), и на фоне НР-инфицированности данный показатель составил 81,05% ( $n = 77$  из 95), что указывает на высокое антральное поражение при НР-инфицированности. Также у 89 (93,7%) пациентов из 95 инфицированных НР с ХГД диагностирован антропилоробульбит. У данных пациентов характерными признаками были воспалительный отек и гиперемия слизистой на фоне легкой контактной кровоточивости, кровоизлияний и эрозии стенок.

Аналогичную картину отмечали также среди пациентов с ХГ. В частности, на фоне НР-инфицированности у 30 (69,8%) из 43 больных, воспалительный процесс локализовался в антральном отделе желудка. У данных пациентов эндоскопическая картина при хроническом неатрофическом антральном гастрите характеризовалась выраженной гиперемией и отеком слизистой оболочки данного отдела желудка, наличием подслизистых кровоизлияний, гиперплазией складок. Для пациентов с хроническим поверхностным гастритом 41,86% ( $n = 18$  из 43) было

характерно распространенное поражение антрального отдела и тела желудка, 66,67% из них (n = 12 из 18) составляли НР-инфицированные пациенты. У данных пациентов на фоне бледности, сглаженности и истончения слизистой с просвечиванием сосудов подслизистого слоя отмечали повышенную ранимость слизистой, ее кровоточивость, что не отмечено у пациентов без НР-инфицированности.

При атрофической форме ГД (n = 38) основным признаком являлось истончение слизистой кишечника, ее бледность. В 76,32% (n = 38) случаев эти изменения носили очаговый характер, в 82,76% (n = 24) случаев выявляли поражение луковицы ДПК и в 17,24% — поражение дистального отдела кишки. При поражении луковицы ДПК определялся длинный линейный деформирующий рубец.

При этом эрозивный бульбит обнаруживался редко (n = 8; 3,2%), и все подобные пациенты были подростками, следовательно, развитие эрозивного бульбита зависело от возраста. На его фоне картина дистального атрофического гастродуоденита сопровождалась развитием воспалительного отека в области большого дуоденального (Фатерова) сосочка, то есть папиллита.

Данный процесс приводил к задержке эвакуации не только из самой двенадцатиперстной кишки, но и к замедлению оттока панкреатического сока и желчи, что характеризовалось одновременным выявлением клиники дискинезии желчевыводящих путей (n = 5) и нарушением внешнесекреторной функции поджелудочной железы (n = 3). Следует отметить, что деформация луковицы, выявляемая при ЭФГДС, не всегда была связана с развитием фиброза стенки ДПК и нередко имела функциональную природу (склонность к гиперкинезу, спазму). В этих случаях введение спазмолитиков приводило к исчезновению признаков деформации.

При рассмотрении структуры язвенного поражения желудка отмечали язвы, имевшие округлую форму с ровными и четко очерченными высокими краями. Слизистая оболочка вокруг язвы была отечна и гиперемирована, имела вид приподнятого валика, который был четко ограничен от окружающей слизистой и возвышался над ней. Дно язвы было покрыто желто-серым налетом. Особенностью эндоскопической картины при язвенной болезни желудка являлось то, что дно язвы имело гладкую структуру, края были плотными, волнообразно

**Таблица. Встречаемость НР-инфицированности среди детей и подростков с ХГДП**

Table. The incidence of HP infection among children and adolescents with CGDP

Код по МКБ-10 ICD-10 code	Показатели Characteristics	Общее количество пациентов с ХГДП The total number of patients with CGDP	ГЭР GER	ДГР DGR
		n = 286	n = 134	n = 46
К 29.9	Общее количество пациентов с ХГД The total number of patients with CGD	174	92	22
	НР-инфицированность/HP-infection	95	71	10
	%	54,60	77,17	45,45
К 29.3-5	Общее количество пациентов с ХГ The total number of patients with CG	43	29	7
	НР-инфицированность/HP-infection	25	23	4
	%	58,14	79,31	57,14
К 29.8	Общее количество пациентов с ХД The total number of patients with CD	22	4	6
	НР-инфицированность/HP-infection	10	3	5
	%	45,45	75,00	83,33
К 25	Общее количество пациентов с ЯБЖ The total number of patients with stomach ulcer	8	6	2
	НР-инфицированность//HP-infection	7	5	1
	%	87,5	83,33	50,00
К 26	Общее количество пациентов с ЯБДПК The total number of patients with duodenal ulcer	39	3	14
	НР-инфицированность/HP-infection	28	2	11
	%	71,79	66,67	78,57
Итого/Total	Общее количество пациентов Total number of patients	286	134	46
	Всего инфицированных/Total infected	165	104	31
	%	57,69	77,61	67,39

приподнятыми, серозная оболочка в области язвы была утолщена, и локализовалась язва преимущественно на малой кривизне, нижней трети тела и угла желудка, имея размеры от 10 до 40 мм. Было отмечено, что чем проксимальнее была расположена язва, тем более крупные размеры она имела. Следует отметить, что ЯБЖ ведет к усилению рубцовых изменений в желудке и усугубляет нарушение трофики его тканей.

При этом вновь образованная рубцовая ткань на фоне очередного обострения легко разрушалась. В ходе анализа особенностей язвенного поражения ДПК определили, что у 78,6% пациентов с НР-инфицированностью ( $n = 22$  из 28) язвенный дефект локализовался в луковице ДПК, и всего у 21,4% ( $n = 6$  из 28) пациентов — в постбульбарном отделе. Одновременно, у пациентов без НР-инфицированности в 81,8% ( $n = 9$  из 11) случаев поражение располагалось в постбульбарном отделе, что в 4 раза больше по сравнению с пациентами, инфицированными *H. pylori*. Также периульцерозное воспаление в виде поверхностного дуоденита было отмечено у всех пациентов с ЯБ ДПК, независимо от НР-инфицированности, и язвенные дефекты имели размер от 5 до 10 мм.

По результатам нашего исследования основными эндоскопическими признаками наличия воспаления СО желудка и двенадцатиперстной кишки являются отек, гиперемия и иногда контактная кровоточивость, а также кровоизлияния. Атрофические поражения слизистого слоя характеризовались его истончением, бледностью на фоне просвечивания сосудов подслизистого слоя. Для неатрофического антрального гастрита более характерным было замедление эвакуации из желудка, антральный стаз и спазм привратника. Для ХАГ более характерными являлись гипотония желудочной стенки, наличие ДГР и снижение моторики.

## Обсуждение

Проблема диагностики и своевременного начала лечения НР-инфицированности у детей и подростков была и остается одной из актуальных проблем современной педиатрии. Проблеме изучения особенностей НР-инфицированности у детей посвящено множество научных изданий, но при этом вопрос изучения эндоскопических изменений в слизистом слое желудочно-кишечного тракта при данной патологии остается малоизученным [3, 20]. Как отмечают О.К. Поздеев с соавт. (2018), у инфицированных людей микробная колонизация протекает бессимптомно, и только у 10–15% лиц инфицирование сопровождается клиническими проявлениями, обусловленными развитием хронического воспаления СОЖ [12].

По результатам нашего исследования у 57,7% пациентов с ХГДП была диагностирована НР-инфицированность, следовательно, *H. pylori* следует считать одним из важных предикторов данной патологии, и на фоне других предикторов патологии [7] ощутима значимость *H. pylori* в развитии ХГДП у детей и подростков [16, 17].

По данным Л.М. Сомовой с соавт. (2014), вакуолизирующий цитотоксин (VacA) *H. pylori* индуцирует апоптоз в эпителиальных клетках слизистого слоя желудка через митохондриальнозависимый путь, что и отражается в эндоскопической картине СОЖ в виде выраженности воспалительного процесса [13]. Одновременно, как отмечают Э.В. Дудникова и М.А. Шестопалова (2011), *H. pylori* сам по себе не может оказать патоморфологического действия, и основным механизмом активации условно-патогенной микрофлоры в эзофагогастроуденальной зоне является нарушение целостности СО с развитием микроциркуляторных расстройств, дистрофических и воспалительно-некротических процессов, приводящих к снижению ее барьерной функции, что создает благоприятные условия для развития инфекции, то есть *H. pylori* не может рассматриваться в качестве единственного этиологического фактора в развитии ХГДП, и патогенетическое действие должно рассматриваться в ассоциации с другими факторами воздействия на слизистую оболочку ЖКТ, с вовлечением в патологический процесс пищевода [2]. Следовательно, немаловажным является сочетание наличия ХГДП с эзофагитом, что мы и наблюдали в ходе нашего исследования. В частности, в проведенном мониторинговом ЭФГДС-исследовании мы отметили одновременное воспалительное поражение желудка (ХГ, ХГД) и пищевода (37,3%). Если учесть, что в общей сложности у 48,6% пациентов с ХГДП было определено наличие эзофагита, то в 96,4% случаев он сочетался с ГЭР. Следовательно, главным фактором развития эзофагитов остается ГЭР. Таким образом, различные патологические признаки гастродуоденальной зоны изолированно не встречаются и в большинстве случаев носят сочетанный характер, то есть наблюдается одновременное поражение различных отделов слизистой оболочки эзофагогастроуденальной области. Аналогичного мнения придерживаются М. Miftahussurur и соавт. (2018), отмечая наличие связи между антральным атрофическим гастритом и ГЭР ( $P = 0,030$ ) и наличие прямой связи между ними и НР-инфицированностью [19]. В то же время, по данным С.Э. Загорского и Т.Н. Войтович (2012), развитие рефлюкс-эзофагита не связано с *H. pylori*-инфекцией, однако течение болезни имеет определенные особенности в условиях НР-инфицированности. Как

отмечают авторы, *H. pylori* является фактором, способствующим активизации патофизиологических механизмов развития гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ): воспаление, распространяющееся на кардиальный отдел желудка, приводит к снижению его тонуса вследствие нарушения нервной проводимости; на фоне НР-ассоциированного антрального гастрита наблюдается повышение уровня соляной кислоты в желудочном содержимом, а также замедленное опорожнение желудка. Инфицирование *H. pylori* диагностируется в 45% случаев у больных с ГЭР [5]. Следовательно, данный вопрос можно считать дискуссионным. По результатам нашего исследования встречаемость ГЭР и ДГР были высокими среди школьников с ХГДП (до 77,61%,  $p < 0,05$  по отношению к общему количеству пациентов).

Другим немаловажным аспектом являются патоморфологические изменения в слизистом слое желудочно-кишечного тракта. По данным К.С. Лоскутовой (2009), в зонах атрофии СОЖ обсемененность *H. pylori* достоверно снижается, что связано с уменьшением секреции слизи и изменением ее состава. Также автор указывает на постепенное увеличение частоты выявления атрофии при ХГ с увеличением возраста больных (от 3,8 до 17,72%) [9].

Е.М. Спивак с соавт. (2017) при исследовании детей с ХГ отмечали колонизацию СОЖ высокопатогенными штаммами *H. pylori*, что приводило к расширению зоны ее повреждения, при этом макроскопически данный процесс характеризовался следующими особенностями: практически у каждого второго пациента (47,2%) диагностировался выраженный процесс, в частности у 79,2% из них наблюдались гиперпластические изменения, у 22,6% — визуальные признаки атрофии [14]. Как показали наши исследования, у 66,67% ( $n = 12$  из 18) пациентов с атрофическим гастритом типа В было диагностировано НР-инфицирование с выраженными визуальными признаками атрофии, что намного выше показателей указанных авторов. Возможно данное различие обусловлено возрастными показателями обследуемых.

Также по данным Я.С. Циммерман и Ю.А. Захаровой (2017), гипертрофический гастрит более характерен для пациентов старших возрастных групп [18]. В нашем исследовании у 4,65% школьников ( $n = 2$  из 43) при эндоскопическом обследовании выявлено наличие гипертрофического гастрита с НР-инфицированностью, что свидетельствует о влиянии *H. pylori* на «омоложение» патологии.

В то же время, по данным Э.В. Каспарова и О.Л. Москаленко (2016), язвенная патология желудка и ДПК у детей диагностируется существенно реже, чем у взрослых: у школьников — в 13,3% случаев [7]. По результатам нашего исследования, язвенная патология среди всех клинических форм ХГДП в общей сложности составила 16,43%, при этом у 87,5% пациентов с ЯБЖ и у 71,79% с ЯБДПК диагностирована НР-инфицированность. Следовательно, роль *H. pylori* в процессе образования язвенной патологии гастродуоденальной области с каждым годом увеличивается, и проблема изучения влияния *H. pylori* на состояние слизистого слоя желудочно-кишечного тракта остается актуальной и требует дальнейшего изучения.

## Выводы

1. У детей с ХГДП выявляемость НР-инфицированности наиболее высока среди пациентов с язвенной патологией по сравнению с больными воспалительными заболеваниями ( $p < 0,05$ ).

2. При эндоскопическом исследовании у пациентов с НР-инфицированностью 4-кратно преобладают атрофические изменения в сочетании с гастродуоденальным рефлюксом по отношению к пациентам без НР-инфицированности ( $p < 0,05$ ).

## Благодарности

Авторы выражают благодарность главному врачу Центральной районной поликлиники Юнус-Абадского района г. Ташкента М.Х. Умаровой за содействие в организации и проведении исследований.

## Список литературы/References

1. Аминова А.И., Акатова А.А., Гумбатова З.Ф., Возгомент О.В., Абдуллаева Г.Д. Диагностика инфекции *Helicobacter pylori* у детей // Вопросы практической педиатрии. 2018. Т. 13, № 4. С. 72–81. [Aminova A.I., Akatova A.A., Gumbatova Z.F., Vozgoment O.V., Abdullaeva G.D. Topical problems of diagnosing *Helicobacter pylori* in childhood. *Voprosy prakticheskoy pediatrii* = *Clinical Practice in Pediatrics*, 2018, vol. 13, no. 4, pp. 72–81. doi: 10.20953/1817-7646-2018-4-72-81 (In Russ.)]
2. Дудникова Э.В., Шестопалова М.А. Роль *Helicobacter pylori* в этиологии и патогенезе хронической гастродуоденальной патологии // Медицинский вестник Юга России. 2011. № 3. С. 4–8. [Dudnikova E.V., Shestopalova M.A. The role of *Helicobacter pylori* in etiology and pathogenesis of chronic gastroduodenal pathology. *Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii* = *Medical Bulletin of the South of Russia*, 2011, no. 3, pp. 4–8. (In Russ.)]
3. Жебрун А.Б. Микробиология и иммунология, вызовы времени // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, № 1. С. 7–8. [Zhebrun A.B. Microbiology and immunology, modern challenges. *Infektsiya i immunitet* = *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, vol. 1, no. 1, pp. 7–8. doi: 10.15789/2220-7619-2011-1-7-8 (In Russ.)]

4. Жесткова Т.В., Бутов М.А., Лымарь Ю.Ю., Папков С.В. Распространенность инфекции *Helicobacter pylori* среди жителей Рязанского региона // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2019. Т. 27, № 1. С. 35–40. [Zhestkova T.V., Butov M.A., Lyumar Yu.Yu., Papkov S.V. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection among population of Rязan region. *Rossiyskiy mediko-biologicheskiy vestnik imeni akademika I.P. Pavlova* = *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*, 2019, vol. 27, no. 1, pp. 35–40. doi: 10.23888/PAVL0VJ 201927135-40 (In Russ.)]
5. Загорский С.Э., Войтович Т.Н., Клецкий С.К. Эндоскопические и морфологические особенности пищевода при рефлюкс-эзофагите // Вопросы детской диетологии. 2014. Т. 12, № 2. С. 13–19. [Zagorskiy S.E., Voitovich T.N., Kletskiy S.K. Endoscopic and morphological features of the esophagus with reflux esophagitis. *Voprosy detskoy dietologii* = *Pediatric Nutrition*, 2014, vol. 12, no. 2, pp. 13–19. (In Russ.)]
6. Камилова А.Т., Геллер С.И., Дустмухамедова Д.Х., Султанходжаева Ш.С., Алиева Н.Р. Статус витамина D при синдроме энтероколита, индуцированного белками пищи у детей // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019. Т. 161, № 1. С. 117–123. [Kamilova A.T., Geller S.I., Dustmukhamedova D.Kh., Sultankhodzhaeva Sh.S., Alieva N.R. Status of vitamin D in the food protein induced enterocolitis syndrome in children. *Ekspierimetal'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* = *Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2019, vol. 161, no. 1, pp. 117–123. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-161-1-117-123 (In Russ.)]
7. Каспаров Э.В., Москаленко О.Л. Актуальность и научные направления в изучении *Helicobacter pylori* инфекции у детей Сибири // В мире научных открытий. 2016. Т. 77, № 5. С. 54–82. [Kasparov E.V., Moskalenko O.L. Relevance and scientific fields of *Helicobacter pylori* infection study in Siberian children. *V mire nauchnykh otkrytiy* = *In the World of Scientific Discoveries*, 2016, vol. 77, no. 5, pp. 54–82. doi: 10.12731/wsd-2016-5-4 (In Russ.)]
8. Коленчукова О.А., Гвоздев И.Н., Горбачева Н.Н., Литвинова И.С. Кислородозависимый фагоцитоз моноцитов крови у детей с *Helicobacter pylori*-ассоциированным эрозивно-язвенным поражением желудка и 12-перстной кишки // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 2. С. 157–162. [Kolenchukova O.A., Gvozdev I.N., Gorbacheva N.N., Litvinova I.S. Oxygen-dependent phagocytosis of blood monocytes in children with *Helicobacter pylori*-associated gastric and duodenal erosions and ulcer. *Infektsiya i immunitet* = *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 2, pp. 157–162. doi: 10.15789/2220-7619-2018-2-157-162 (In Russ.)]
9. Лоскутова К.С. Изменения слизистой оболочки антрального отдела желудка при *Helicobacter pylori*-ассоциированном гастрите у населения Якутии // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. 2006. Т. 3, № 2. С. 22–26. [Loskutova K.S. Changes in the mucous membrane of the antrum of the stomach in *Helicobacter pylori*-associated gastritis in the population of Yakutia. *Vestnik Severo-Vostochnogo federal'nogo universiteta im. M.K. Ammosova* = *Bulletin of the M.K. Ammosov Northeastern Federal University*, 2006, vol. 3, no. 2, pp. 22–26. (In Russ.)]
10. Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Д.Н., Гречушников В.Б., Коровина Т.И. Клиническое значение инфекции *Helicobacter pylori* // Клиническая медицина. 2013. Т. 91, № 8. С. 4–12. [Maev I.V., Samsonov A.A., Andreev D.N., Grechushnikov V.B., Korovina T.I. Clinical significance of *Helicobacter pylori* infection. *Klinicheskaya meditsina* = *Clinical Medicine*, 2013, vol. 91, no. 8, pp. 4–12. (In Russ.)]
11. Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Чудайкин А.Н., Мишанина Л.С. Изменения моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 при *Helicobacter pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 2. С. 150–156. [Matveeva L.V., Kapkaeva R.C., Chudajkin A.N., Mishanina L.S. Changes monocyte chemoattractants protein-1 in *Helicobacter pylori* associated gastroduodenal diseases. *Infektsiya i immunitet* = *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 2, pp. 150–156. doi: 10.15789/2220-7619-2018-2-150-156 (In Russ.)]
12. Поздеев О.К., Поздеева А.О., Валева Ю.В., Гуляев П.Е. Механизмы взаимодействия *Helicobacter pylori* с эпителием слизистой оболочки желудка, и факторы патогенности, способствующие успешной колонизации // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 3. С. 273–283. [Pozdeev O.K., Pozdeeva A.O., Valeeva Y.V., Gulyaev P.E. mechanisms of interaction of *Helicobacter pylori* with epithelium of gastric mucosa, and pathogenic factors promoting successful colonization. *Infektsiya i immunitet* = *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 273–283. doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-273-283 (In Russ.)]
13. Сомова Л.М., Беседнова Н.Н., Плехова Н.Г. Апоптоз и инфекционные болезни // Инфекция и иммунитет. 2014. Т. 4, № 4. С. 303–318. [Somova L.M., Besednova N.N., Plekhova N.G. Apoptosis and infectious diseases. *Infektsiya i immunitet* = *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2014, vol. 4, no. 4, pp. 303–318. doi: 10.15789/2220-7619-2014-4-303-318 (In Russ.)]
14. Спивак Е.М., Левит Р.М., Кузьмина Г.В., Демечук М.Ю. Влияние генетической характеристики *Helicobacter pylori* на воспалительный процесс в слизистой оболочке верхних отделов пищеварительного тракта детей с хроническим гастритом // Бактериология. 2017. Т. 2, № 4. С. 25–29. [Spivak E.M., Levit R.M., Kuzmina G.V., Demenchuk M.Yu. The influence of genetic features of *Helicobacter pylori* on the inflammatory process in the mucosa of the upper digestive tract of children with chronic gastritis. *Bakteriologiya* = *Bacteriology*, 2017, vol. 2, no. 4, pp. 25–29. doi: 10.20953/2500-1027-2017-4-25-29 (In Russ.)]
15. Терещенко С.Ю., Каспаров Э.В., Прахин Е.И., Анисимова Е.Н., Шубина М.В., Горбачева Н.Н. Инфицированность бактерией *Helicobacter pylori* у подростков г. Красноярск с функциональными заболеваниями желудочно-кишечного тракта // Вопросы детской диетологии. 2017. Т. 15, № 5. С. 15–21. [Tereshchenko S.Yu., Kasparov E.V., Prahin E.I., Anisimova E.N., Shubina M.V., Gorbacheva N.N. Infection with the bacterium *Helicobacter pylori* in adolescents of Krasnoyarsk with functional diseases of the gastrointestinal tract. *Voprosy detskoy dietologii* = *Pediatric Nutrition*, 2017, vol. 15, no. 5, pp. 15–21. doi: 10.20953/1727-5784-2017-5-15-21 (In Russ.)]
16. Турдыева Ш.Т. Влияние энтеральной оксигенотерапии на хеликобактериоз при реабилитации детей с хронической гастродуоденальной патологией // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2018. Т. 63, № 4. С. 69–72. [Turdyeva S.T. Effect of enteric oxygen therapy on helicobacteriosis in the rehabilitation of children with chronic gastroduodenal pathology. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii* = *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2018, vol. 63, no. 4, pp. 69–72. doi: 10.21508/1027-4065-2018-63-4-69-72 (In Russ.)]
17. Турдыева Ш.Т. Выявление факторов риска развития хронических заболеваний гастродуоденальной зоны у детей и подростков школьного возраста // Вопросы практической педиатрии. 2014. Т. 9, № 2. С. 63–67. [Turdyeva Sh.T. Revealing risk factors for development of chronic diseases of the gastroduodenal area in school-age children and adolescents. *Voprosy prakticheskoy pediatrii* = *Clinical Practice in Pediatrics*, 2014, vol. 9, no. 2, pp. 63–67. (In Russ.)]

18. Циммерман Я.С., Захарова Ю.А. Проблемные вопросы учения о хроническом гастрите // Клиническая медицина. 2017. Т. 95, № 1. С. 8–14. [Tsimmerman Ya.S., Zakharova Yu.A. Topical problems of chronic gastritis. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*, 2017, vol. 95, no. 1, pp. 8–14. doi: 10.18821/0023-2149-2017-95-1-8-14 (In Russ.)]
19. Miftahussurur M., Doohan D., Nusi I.A., Adi P., Rezkiha Y.A.A., Waskito L.A., Fauzia K.A., Bramantoro T., Maimunah U., Thamrin H., Masithah S.I., Sukadiono S., Uchida T., Lusida M.I., Yamaoka Y. Gastroesophageal reflux disease in an area with low *Helicobacter pylori* infection prevalence. *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 11: e0205644. doi: 10.1371/journal.pone.0205644
20. Oliva S., Thomson M., de Ridder L., Martín-de-Carpi J., Van Biervliet S., Braegger C., Dias J.A., Kolacek S., Miele E., Buderus S., Bronsky J., Winter H., Navas-López V.M., Assa A., Chong S.K.F., Afzal N.A., Smets F., Shaoul R., Hussey S., Turner D., Cucchiara S. Endoscopy in pediatric inflammatory bowel disease: a position paper on behalf of the porto IBD Group of the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *JPGN*, 2018, vol. 67, pp. 414–430. doi: 10.1097/MPG.0000000000002092

---

**Авторы:**

**Турдиева Ш.Т.**, д.м.н., доцент кафедры амбулаторной медицины Ташкентского педиатрического медицинского института, Ташкент, Республика Узбекистан;  
**Шамансурова Э.А.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой амбулаторной медицины Ташкентского педиатрического медицинского института, Ташкент, Республика Узбекистан.

**Authors:**

**Turdieva Sh.T.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Outpatient Medicine, Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan;  
**Shamansurova E.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Outpatient Medicine, Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan.

---

Поступила в редакцию 07.12.2019  
Отправлена на доработку 13.02.2020  
Принята к печати 11.03.2020

---

Received 07.12.2019  
Revision received 13.02.2020  
Accepted 11.03.2020

# ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ КРОВИ В ОТВЕТ НА МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНЫЕ ШТАММЫ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

О.А. Коленчукова<sup>1,2</sup>, Н.И. Сарматова<sup>2</sup>, А.В. Мошев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, Россия

<sup>2</sup> Институт биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета Минобрнауки РФ, г. Красноярск, Россия

**Резюме.** Цель: оценка фагоцитарной активности моноцитов крови при воздействии метициллинрезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* относительно чувствительных штаммов. Объекты: моноциты крови, выделенные у 25 практически здоровых людей в возрасте от 25 до 45 лет и штаммы *S. aureus* устойчивые и чувствительные к действию оксациллина (метициллина) (MRSA/MSSA) в виде живой суспензии в концентрации  $10^6$  КОЕ/мл для индукции фагоцитов. *Материалы и методы.* Исследование фагоцитарной активности моноцитов проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, США), в следующей панели: CD14-PE/CD45-ECD/HLA-DR-PC5/CD16-PC7. Исследование интенсивности «респираторного взрыва» моноцитов осуществляли через определение активности люцигенин- и люминол-зависимой спонтанной и индуцированной хемилюминесценции. *Результаты и обсуждение.* В результате обнаружено, что при исследовании люминол-зависимой хемилюминесценции моноцитов в ответ на индукцию MRSA относительно MSSA, было выявлено снижение площади кривой в 3,5 раза. В люцигенин-зависимом процессе интенсивность хемилюминесценции при воздействии MRSA относительно MSSA снижена в 6 раз. Индекс активации (ИА) при воздействии MRSA относительно MSSA снижен в 1,1 раза. Снижение ИА доказывает низкий выброс АФК моноцитами в ответ на индукцию MRSA. В результате исследования кислороднезависимого фагоцитоза моноцитов в ответ на воздействие MRSA относительно MSSA было обнаружено снижение фагоцитарного числа, при этом фагоцитарный индекс достоверно повышался. Оценка активности субпопуляционного состава моноцитов при воздействии штаммов MRSA относительно MSSA показала увеличение фагоцитарного индекса субпопуляций CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup>-моноцитов и CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>-клеток в 1,5 раза, субпопуляций CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>-моноцитов в 3 раза, при этом фагоцитарное число субпопуляций моноцитов CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> были снижены (1,4; 1,5; 4 раза соответственно). *Заключение.* Таким образом, субпопуляции моноцитов в отношении MRSA проявляют разную степень активизации, при повышенной интенсивности «респираторного взрыва». Также можно отметить, что классический тип моноцитов CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> в ответ на антиген активируется быстрее при низком фагоцитарном эффекте. Моноциты субпопуляций CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup> при низкой скорости ответа на MRSA фагоцитируют эффективнее.

**Ключевые слова:** фагоцитоз, моноциты крови, MRSA, MSSA, хемилюминесценция, респираторный взрыв.

## Адрес для переписки:

Коленчукова Оксана Александровна  
660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г,  
ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера.  
Тел.: 8 (391) 228-06-83, 228-06-81, 228-06-62 (служебн.).  
Факс: 8 (391) 228-06-83.  
E-mail: kalina-chyikova@mail.ru

## Contacts:

Oksana A. Kolenchukova  
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk, P. Zheleznyaka str., 3g,  
Scientific Research Institute of Medical Problems of the North.  
Phone: +7 (391) 228-06-83, 228-06-81, 228-06-62 (office).  
Fax: +7 (391) 228-06-83.  
E-mail: kalina-chyikova@mail.ru

## Библиографическое описание:

Коленчукова О.А., Сарматова Н.И., Мошев А.В. Функциональная активность моноцитов крови в ответ на метициллинрезистентные штаммы *Staphylococcus aureus* // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 551–557. doi: 10.15789/2220-7619-PAO-1181

## Citation:

Kolenchukova O.A., Sarmatova N.I., Moshev A.V. Phagocytic activity of blood monocytes in response to methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 551–557. doi: 10.15789/2220-7619-PAO-1181

## PHAGOCYtic ACTIVITY OF BLOOD MONOCYTES IN RESPONSE TO METHICILLIN-RESISTANT STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Kolenchukova O.A.<sup>a,b</sup>, Sarmatova N.I.<sup>b</sup>, Moshev A.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Scientific Research Institute of medical problems of the North (SRI MPN), Krasnoyarsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Abstract.** Current study performed to estimate the phagocytic activity of blood monocytes of varying phenotypes exposed to MRSA and MSSA strains. Objects: Blood monocytes were collected from 25 healthy adults (age: 25–45 years). Live suspensions of MRSA/MSSA strains were used at concentration of  $10^6$  colony-forming units (CFU)/mL. *Methods.* Phagocytic functions were estimated by using fluorescein isothiocyanate (FITC)-labelled MRSA and MSSA strains followed by running flow cytometry on FC 500 series flow cytometer (Beckman Coulter, USA). Whole peripheral blood cells were directly labelled with immunofluorescently tagged monoclonal CD14-PE/CD45-ECD/HLA-DR-PC5/CD16-PC7 antibodies (Beckman Coulter, USA). Respiratory burst intensity was evaluated in monocytes by measuring activity of lucigenin- and luminol-dependent spontaneous and induced chemiluminescence. Monocytes were induced by using live suspension of MRSA/MSSA strains at a concentration of  $10^6$  CFU/mL. *Results and discussion.* While studying luminol-dependent monocyte activities after exposure to MRSA vs. MSSA, it was observed a 3.5-fold decreased curve square, whereas lucigenin-dependent chemiluminescence was increased by 6-fold. Compared to MSSA exposure, index of activation (IA) was decreased by 1.1-fold in response to MRSA exposure that was confirmed by lowered release of reactive oxygen species (ROS) from monocytes in response to MRSA exposure. Moreover, IRSS increased by 1.3-fold upon MRSA exposure. Examining monocyte oxygen-independent phagocytosis against MRSA vs. MSSA revealed significantly increased phagocytic number and concomitantly decreased phagocytic index. An evaluation of the activities of various monocyte subsets in response to MRSA vs. MSSA revealed increased phagocytic index by 1.5-fold for CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup> and CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte subsets as well as 3-fold for CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> monocytes. Counts for all phagocytic subsets were decreased (1.4-, 1.5- and 4-fold for CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> and CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> monocytes, respectively). To summarize, intensity of the respiratory burst was lowered upon MRSA exposure and percentage of monocyte subsets. Overall deficiency of superoxide anion production was observed in response to MRSA. In contrast, oxygen-independent event revealed phenotypic changes in frequency of peripheral blood monocytes upon MRSA exposure. We observed that CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> classical monocytes were more rapidly activated. *Conclusion.* Thus, we concluded that CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> monocytes became more rapidly activated but exhibited less effective phagocytosis, whereas CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> and CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes were more slowly activated and demonstrated stronger phagocytic activity.

**Key words:** phagocytosis, blood monocytes, MRSA, MSSA, chemiluminescence, respiratory explosion.

Фагоцитоз является одной из главных систем защиты организма от чужеродных агентов и играет важную роль при гнойно-воспалительных заболеваниях, особенно при стафилококковой инфекции. Активированные моноциты являются мощными эффекторами и запускают механизмы каскадных реакций, обеспечивающих развитие воспаления. Моноциты первыми мобилизуются в очаг воспаления, и от их фагоцитарной активности зависит элиминация возбудителя [1, 5, 16].

Метициллинрезистентный стафилококк (MRSA) продуцирует  $\beta$ -лактамазы и дополнительно имеет пенициллинсвязывающий белок (ПСБ2а) и следовательно, устойчив ко всем  $\beta$ -лактамам антибиотикам. Наиболее часто именно с ним связаны внутрибольничные (нозокомиальные) инфекции [4]. Известно, что уровень летальности при бактериемиях, вызываемых MRSA, достоверно выше, чем при инфекциях, обусловленных чувствительными штаммами. Установлено, что при стафилококковой инфекции киллинг бактерий осуществляется в основном с участием кислородзависимой ферментной системы. При этом, как

показывают результаты исследования, на этапах инициации инфекции реактивность этих бактерицидных систем зависит как от вида, так и от степени вирулентности возбудителя [4, 16]. Вместе с тем известно, что в процессе эволюции стафилококки приобрели способность к угнетению фагоцитарной функции лейкоцитов крови путем блокирования опсонизирующих веществ (комплемента и иммуноглобулина G), а также путем непосредственного токсического действия на фагоциты [7, 13, 17].

Несмотря на интенсивность исследований в данном направлении, остается все еще малоизученным весь спектр происходящих внутриклеточных событий, связанных с изменением фенотипических характеристик и функционирования моноцитов при воздействии бактериальных агентов, в том числе чувствительных и резистентных к действию антибиотиков [8].

Целью исследования является оценка фагоцитарной активности моноцитов крови при воздействии метициллинрезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* относительно чувствительных штаммов.

## Материалы и методы

Объектами исследования служили моноциты крови, выделенные у 25 практически здоровых людей в возрасте от 25 до 45 лет, и штаммы *S. aureus* устойчивые к действию оксациллина/метициллина (MRSA) в виде живой суспензии в концентрации  $10^6$  КОЕ/мл. В качестве контроля использовались штаммы *S. aureus*, чувствительные к действию оксациллина/метициллина (MSSA), в аналогичной концентрации.

Для выявления метициллинрезистентности *S. aureus* использовали метод скрининга на агаре. Для проведения скрининга использовали агар Мюллера–Хинтон, содержащий 4% NaCl и 6,0 мкг/мл метициллина.

Микробную взвесь готовили методом прямого суспендирования из нескольких однопипетных изолированных колоний стафилококков в стерильном физиологическом растворе и доводили до мутности 0,5 по МакФарланду ( $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл). Инокуляцию чашек с агаром проводили с помощью стерильного ватного тампона. Культуру наносили на ограниченную поверхность (диаметром 10–15 мм). Штаммы *S. aureus* инкубировали при температуре 35°C в течение 24 ч. После инкубации чашки просматривали. Появление видимого роста на месте нанесения культуры считали проявлением устойчивости данного штамма к оксациллину/метициллину. Исследование проводили при обязательном контроле роста испытуемых культур на агаре Мюллера–Хинтон с 4% NaCl без метициллина (культуры наносили так же, как на агар с метициллином). Параллельно с исследуемыми культурами тестируют также контрольные штаммы метициллинчувствительных и метициллинрезистентных стафилококков.

Исследование фагоцитарной активности моноцитов проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, США), меченных PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-Texas Red-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) в следующей панели: CD14-PE/CD45-ECD/HLA-DR-PC5/CD16-PC7. Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в соответствии с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [12]. Подготовку образцов периферической крови для анализа осуществляли по стандартной методике [12]. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием реагента VersaLyse (Beckman Coulter, США).

Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре «FC-500» (Beckman Coulter, США) [12]. В каждой пробе анализировали не менее 50 000 моноцитов. Уровень фагоцитоза определяли методом проточной цитометрии с помощью FITC-меченных (fluorescein isothiocyanate) бактериальных штаммов MRSA относительно MSSA [17]. Конъюгацию выполняли следующим образом: к бактериальному штамму (разведенному в бикарбонатном буфере, pH = 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 бактерий до 1 млн/мл. К 100 мкл гепаринизированной крови добавляли 10 мкл FITC-меченной суспензии штаммов и инкубировали 30 мин при температуре 37°C. Для гашения адгезированных FITC-меченных бактерий добавляли раствор трипанового синего (0,2 мг/мл). Подсчитывали процент флуоресцирующих моноцитов (определяли как фагоцитарный индекс — ФИ) и средний уровень флуоресценции клеток (фагоцитарное число — ФЧ) [12].

Исследование интенсивности «респираторного взрыва» моноцитов осуществляли через определение активности люцигенин- и люминол-зависимых реакций спонтанной и индуцированной хемилюминесценции. Индукцию моноцитов осуществляли бактериальной культурой MRSA относительно MSSA в концентрации  $10^6$  КОЕ/мл. Хемилюминесцентная активность оценивалась в течение 90 мин на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе «CL3606» (Россия) [6, 14]. Определяли следующие характеристики: время выхода на максимум (Tmax), максимальное значение интенсивности (Imax), а также площадь под кривой (S) хемилюминесценции. Усиление хемилюминесценции, оценивали отношением площади индуцированной хемилюминесценции к площади спонтанной (Синд.<sub>MRSA</sub>/Спонт.) и (Синд.<sub>MSSA</sub>/Спонт.) определяли как индекс активации (ИА<sub>MRSA</sub>) и (ИА<sub>MSSA</sub>). Индекс относительного синтеза супероксид-радикала (ИОСС) является отношением площади люминол-зависимой реакции к люцигенин-зависимому процессу (Слюм./Слюц.) и определяет уровень синтеза первичных радикалов к вторичным.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 1 и 3 квартилей (Q<sub>25</sub> и Q<sub>75</sub>). Достоверность различий между показателями зависимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Вилкоксона. Статистический анализ осуществляли в пакете программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., 2007).

## Результаты

Исследование интенсивности «респираторного взрыва» моноцитов включало оценку интенсивности выработки первичных и вторичных форм кислорода. С помощью хемилюминесцентного анализа, в котором активатором является люцигенин, определяли способность моноцитов к образованию супероксидного аниона ( $O_2^{\cdot-}$ ) и при активации люминолом — образование общего пула свободных радикалов кислорода. Хемилюминесцентное определение функциональной активности моноцитов базировалось на определении базовой активности (спонтанная реакция) и резервных возможностей клеток (при воздействии специфического индуктора в виде бактериальной суспензии MRSA относительно MSSA). Супероксидный анион-радикал образуется в результате ферментативных реакций и относится к первичным радикалам кислорода, являясь источником для вторичных радикалов ( $H_2O_2$ ,  $\cdot OH$ ,  $^1O_2$ ,  $HClO$ ) выделяемых фагоцитами.

При исследовании люминол-зависимой активности моноцитов в ответ на индукцию MRSA относительно MSSA было выявлено сни-

жение площади кривой в 3,5 раза (табл. 1). В люцигенин-зависимом процессе интенсивность хемилюминесценции при воздействии MRSA относительно MSSA увеличена в 6 раз. ИА при воздействии MRSA относительно MSSA снизился в 1,1 раза. Снижение ИА доказывает низкий выброс активных форм кислорода (АФК) моноцитами в ответ на индукцию MRSA. ИОСС при стимуляции MRSA был выше в 1,3 раза относительно MSSA.

В результате исследования фагоцитарной активности моноцитов в ответ на воздействие MRSA относительно MSSA было обнаружено снижение фагоцитарного числа, при этом фагоцитарный индекс достоверно повышался. Оценка активности популяционного состава моноцитов при воздействии штаммов MRSA относительно MSSA показала увеличение фагоцитарного индекса популяции  $CD14^{low}CD16^+$  — моноцитов и  $CD14^+CD16^+$ -клеток в 1,5 раза, популяции  $CD14^+CD16^-$ -моноцитов — в 3 раза, при этом фагоцитарное число популяции моноцитов  $CD14^{low}CD16^+$ ,  $CD14^+CD16^+$  и  $CD14^+CD16^-$  было снижено (в 1,4; 1,5; 4 раза соответственно) (табл. 2).

**Таблица 1. Показатели люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции моноцитов при воздействии штаммов *Staphylococcus aureus*, устойчивых и чувствительных к метициллину**

Table 1. Indicators of luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence of monocytes under the influence of MRSA and MSSA strains

Показатели Characteristics	Спонтанная реакция Spontaneous reaction	Индукцированная реакция Induced reaction	
		MRSA	MSSA
	N = 25		
	1	2	3
<b>Люминол-зависимая реакция</b> Luminol-dependent reaction			
<b>Tmax (с)</b>	2600 (573–4812)	2242,50 (1082–4740)	2880 (983–4692)
<b>Imax (о.е)</b>	631,5 (173–4190)	1506,5 (230–4666)	602,5 (240–4044)
<b>Smax x 10<sup>4</sup> (о.е.)</b>	57,5 (34,4–1680)	319,4 (48,6–1620)	91,4 (46,1–1165) P <sub>2</sub> = 0,025
<b>ИА</b> IA		1,01 (0,96–1,52)	0,98 (0,9–1,28)
<b>Люцигенин-зависимая реакция</b> Lucigenin-dependent reaction			
<b>Tmax (с)</b>	860 (484–2603)	1416 (664–1576)	1609,5 (364–2519)
<b>Imax (о.е)</b>	194 (157–2030)	188 (147–2056)	1133,5 (158–2213) P <sub>2</sub> = 0,036
<b>Smax x 10<sup>4</sup> (о.е.)</b>	44,9 (37,7–897,5)	33,9 (30,9–837,0)	135,6 (32,7–881,3)
<b>ИА</b> IA	1,10 (1–1,24)		1,21 (0,97–1,65) P <sub>2</sub> = 0,046
<b>ИОСС</b> IRSS	1,5 (1,01–1,4)	1,63 (0,96–4,1)	1,22 (0,72–1,7) P <sub>2</sub> = 0,026

**Примечание.** MRSA — метициллин-резистентный *S. aureus*; MSSA — чувствительный к метициллину *S. aureus*; Tmax — время максимальной активности; Imax — максимальная интенсивность; Smax — площадь под кривой; IA — индекс активации; IRSS — индекс относительного синтеза супероксидных радикалов.

Note. MRSA — methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA — methicillin-susceptible *S. aureus*; Tmax — time of maximum activity; Imax — maximum intensity; Smax — area under the curve; IA — index of activation; IRSS — index of relative synthesis of superoxide radicals.

**Таблица 2. Показатели фагоцитарной активности моноцитов при воздействии штаммов *Staphylococcus aureus*, устойчивых и чувствительных к метициллину**

Table 2. Indicators of phagocytic activities of monocytes upon exposure to MRSA and MSSA strains

Показатели Characteristics	MRSA	MSSA	P
	N = 25		
Фагоцитарный индекс общей популяции моноцитов, % Phagocytic index of the general population of monocytes, %	34,92 (13,07–44,92)	12,4 (6,855–21,4)	< 0,001
Фагоцитарное число общей популяции моноцитов Phagocytic number of the general population of monocytes	55,7 (36,4–73,7)	103 (64,1–128)	< 0,001
Фагоцитарный индекс фенотипа CD14 <sup>low</sup> CD16 <sup>+</sup> , % Phagocytic index of CD14 <sup>low</sup> CD16 <sup>+</sup> monocytes, %	42,1 (27,58–60)	30,76 (22,22–40)	= 0,002
Фагоцитарный индекс фенотипа CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> , % Phagocytic index of CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> monocytes, %	50 (25–69,38)	33,33 (15,62–50)	= 0,009
Фагоцитарное число фенотипа CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> Phagocytic number of CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> monocytes	67,1 (37,7–178)	261 (128–364)	< 0,001
Фагоцитарный индекс фенотипа CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> , % Phagocytic index of CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> monocytes, %	36,57 (12,5–48,69)	12 (5,897–18,23)	< 0,001
Фагоцитарное число фенотипа CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> Phagocytic number of CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> monocytes	50,8 (31,6–58,7)	63,5 (46–82,5)	< 0,001

**Примечание.** MRSA — метициллин-резистентный *S. aureus*; MSSA — восприимчивый к метициллину *S. aureus*.Note. MRSA — methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA — methicillin-susceptible *S. aureus*.

## Обсуждение

Следует отметить, что моноциты периферической крови, рассматривавшиеся долгое время в качестве единой группы клеток, на основании функциональной активности и экспрессии некоторых поверхностных антигенов подразделяются на несколько различных популяций [5, 9, 11, 16]. Так, циркулирующие моноциты по фенотипическим характеристикам можно разделить как минимум на две популяции, различающиеся по уровням экспрессии поверхностных молекул — компонента рецепторного комплекса для бактериального липополисахарида CD14 и высокоаффинного рецептора Fcγ CD16. Клетки, несущие на своей поверхности только CD14, принято называть «классическими моноцитами», так как в норме они составляют до 95% от общего числа циркулирующих моноцитов. Тогда как моноциты, обладающие фенотипом CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, определяются как «неклассические» или «провоспалительные» [10]. Увеличение количества последних имеет место при различных патологических процессах, включая сепсис, острые и хронические воспалительные заболевания вирусной и бактериальной этиологии и т. д. [11, 15]. В ряде случаев выделяют дополнительную группу моноцитов с фенотипом CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> или CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>, которые принято называть «промежуточными» [3]. Популяции моноцитов различаются не только по экспрессии CD14 и CD16, но и существенно отличаются друг от друга по своим функциональным свойствам, к числу которых относят профиль синтезируемых цитокинов и хемокинов, способ-

ность к фагоцитозу, а также синтезу и секреции активных форм кислорода и оксида азота [3, 9, 11]. В связи с этим функциональные особенности моноцитов могут также оцениваться и по уровню «респираторного взрыва», который характеризуется хемилюминесцентной активностью клеток при их взаимодействии с антигеном [5, 7].

Исследование показало, что в ответ на воздействие MRSA активируются и захватывают бактериальные частицы в большей степени «классические» моноциты с фенотипом CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>. В то же время в данной популяции выявлено повышение фагоцитарного индекса при воздействии MRSA относительно MSSA, при этом обнаружено, что фагоцитарное число снижено. Таким образом, можно отметить, что «классический» тип моноцитов с фенотипом CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> быстро активируется, при этом эффективность фагоцитоза снижена. «Неклассические» популяции моноцитов CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup> также принимают участие в фагоцитозе, но активируются медленнее и процент захваченных частиц намного меньше. Необходимо отметить, что именно популяция моноцитов с фенотипом CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup> обладает повышенной способностью мигрировать через эндотелий и дифференцироваться в дендритные клетки, которые инициируют развитие адаптивного иммунитета [3, 9].

Функциональная активность моноцитов осуществляется исходя из их популяционного состава в периферической крови. Популяция «классических» моноцитов представлена крупными клетками с высоким уровнем фагоцитарной активности. «Неклассические» моноциты

определяются как сравнительно небольшие клетки с низкой фагоцитарной и оксидазной активностью и, соответственно, с пониженным уровнем «респираторного взрыва». «Промежуточный» тип моноцитов определяется как «провоспалительный» в связи с активной продукцией провоспалительных цитокинов [2, 8, 11, 14].

При воздействии MRSA значительно изменяется хемилюминесцентная активность моноцитов периферической крови. Обнаружено, что при индукции «респираторного взрыва» с помощью MRSA относительно MSSA снижается работа НАДФН-оксидазы. Также при индукции MRSA снижена интенсивность хемилюминесценции при снижении индекса активации в люцигенин-зависимой хемилюминесценции, который характеризует уровень метаболических резервов для синтеза активных форм кислорода [14]. Цитотоксическая активность моноцитов определяется уровнем продукции как первичных (супероксидный

анион), так и вторичных активных форм (гидроксильный радикал, перекись водорода и др.) кислорода. В люминол-зависимом процессе увеличение площади под кривой моноцитов крови при воздействии MRSA определяет повышенный уровень «респираторного взрыва», что в целом характеризует цитотоксическую активизацию моноцитов крови в ответ на воздействие золотистого стафилококка, устойчивого к метициллину.

Таким образом, при индукции MRSA установлены изменения в фенотипическом составе и интенсивности «респираторного взрыва» моноцитов периферической крови. Уровень выброса вторичных радикалов в общей фракции моноцитов крови при индукции MRSA повышен при снижении выработки первичных кислородных форм, что может привести к дисбалансу метаболизма клетки. Можно предположить, что при индукции золотистым стафилококком (в большей степени MRSA) функциональная активность моноцитов подавлена.

## Список литературы/References

1. Коленчукова О.А., Игнатова И.А., Смирнова С.В., Капустина Т.А., Кин Т.Н. Особенности микрофлоры слизистой оболочки носа у больных аллергическим риносинуситом // Вестник оториноларингологии. 2008. Т. 5. С. 33–36. [Kolenchukova O.A., Ignatova I.A., Smirnova S.V., Kapustina T.A., Kin T.N. Properties of nasal mucosal microflora in patients with allergic rhinosinusitis. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2008, vol. 5, pp. 33–36. (In Russ.)]
2. Коленчукова О.А., Сарматова Н.И., Механизмы воздействия устойчивых к метициллину штаммов *Staphylococcus aureus* на функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов // Антибиотики и химиотерапия. 2014. Т. 59, № 11–12. С. 20–23. [Kolenchukova O., Sarmatova N. Mechanisms of influence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* on functional state of neutrophilic granulocytes. *Antibiotiki i khimioterapiia*. 2014, vol. 59, no. 11–12, pp. 20–23. (In Russ.)]
3. Appleby L.J., Nausch N., Midzi N., Mduluzi T., Allen J.E., Mutapi F. Sources of heterogeneity in human monocyte subsets. *Immunol. Lett.*, 2013, vol. 1, no. 152, pp. 32–41. doi: 10.1016/j.imlet.2013.03.004
4. Chen Y., Lu S., Zhang Y., Yu J., Deng L., Chen H., Zhang Y., Zhou N., Yuan K., Yu L., Xiong Z., Gui X., Yu Y., Min W. TLR2 agonist Pam3CSK4 enhances the antibacterial functions of GM-CSF induced neutrophils to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microb. Pathog.*, 2019, vol. 130, pp. 204–212. doi: 10.1016/j.micpath.2019.02.030
5. Flack C.E., Zurek O.W., Meishery D.D., Pallister K.B., Malone C.L., Horswill A.R., Voyich J.M. Differential regulation of staphylococcal virulence by the sensor kinase SaeS in response to neutrophil-derived stimuli. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2014, vol. 13, no. 111, pp. 19–25. doi: 10.1073/pnas.1322125111
6. Gordon S. Targeting a monocyte subset to reduce inflammation. *Circ. Res.*, 2012, vol. 12, no. 110, pp. 1546–1548. doi: 10.1161/RES.0b013e31825ec26d
7. Hristov M., Schmitz S., Nauwelaers F., Weber C. A flow cytometric protocol for enumeration of endothelial progenitor cells and monocyte subsets in human blood. *J. Immunol. Methods*, 2012, vol. 1–2, no. 381, pp. 9–13. doi: 10.1016/j.jim.2012.04.003
8. Kim H.K., Cheng A.G., Kim H.Y., Missiakas D.M., Schneewind O. Nontoxic protein A vaccine for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in mice. *J. Exp. Med.*, 2010, vol. 207, no. 9, pp. 1863–1870. doi: 10.1084/jem.20092514
9. Krogh A.Kh., Haaber J., Bochsén L., Ingmer H., Kristensen A.T. Aggregating resistant *Staphylococcus aureus* induces hypocoagulability, hyperfibrinolysis, phagocytosis, and neutrophil, monocyte, and lymphocyte binding in canine whole blood. *Vet. Clin. Pathol.*, 2018, vol. 47, no. 4, pp. 560–574. doi: 10.1111/vcp.12679
10. Kolonitsiou F., Papadimitriou-Olivgeris M., Spiliopoulou A., Drougka E., Jelastopulu E., Anastassiou E.D., Spiliopoulou I. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST80 induce lower cytokine production by monocytes as compared to other sequence types. *Front Microbiol.*, 2019, vol. 9: 3310. doi: 10.3389/fmicb.2018.03310
11. Lauvau G., Chorro L., Spaulding E., Soudja S.M. Inflammatory monocyte effector mechanisms. *Cell Immunol.*, 2014, vol. 1–2, no. 291, pp. 32–40. doi: 10.1016/j.cellimm.2014.07.007
12. Luider J., Cyfra M., Johnson P., Auer I. Impact of the new Beckman Coulter Cytomics FC 500 5-color flow cytometer on a regional flow cytometry clinical laboratory service. *Lab. Hematol.*, 2004, vol. 10, pp. 102–108. doi: 10.1532/LH96.04121
13. Maecker H., McCoy P., Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the human immunology project. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, vol. 12, pp. 191–200. doi: 10.1038/nri3158
14. Nocca G., De Sole P., Gambarini G., De Palma F., Parziale V., Giardina B., Lupi A. Alteration of monocytic cell oxidative burst caused by methacrylic monomers present in dental materials: a chemiluminescence study. *Luminescence.*, 2006, vol. 3, no. 21, pp. 202–206. doi: 10.1002/bio.909

15. Palmqvist N., Foster T., Tarkowski A., Josefsson E. Protein A is a virulence factor in Staphylococcus aureus arthritis and septic death. *Microbial Pathogenesis*, 2002, vol. 5, no. 33, pp. 239–249. doi: 10.1006/mpat.2002.0533
16. Shahkarami F., Rashki A., Rashki Ghalehnoo Z., Jundishapur J. Susceptibility and plasmid profiles of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and methicillin-susceptible S. aureus. *Microbiol.*, 2014, vol. 7, no. 7, pp. 37–42.
17. Streh C., Fangradt M., Fearon U., Gaber T., Buttgerit F., Veale D.J. Hypoxia: how does the monocytomacrophagesystem respond to changes in oxygen availability? *J. Leukoc. Biol.*, 2014, vol. 2, no. 95, pp. 233–241. doi: 10.1189/jlb.1212627

---

**Авторы:**

**Коленчукова О.А.**, д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

**Сарматова Н.И.**, к.б.н., доцент кафедры биотехнологии Института биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета Минобрнауки РФ, г. Красноярск, Россия;

**Мошев А.В.**, научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр СО РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия.

**Authors:**

**Kolenchukova O.A.**, PhD, MD (Biology), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Cell Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

**Sarmatova N.I.**, PhD (Biology), Associate Professor, Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, Siberian Federal University, Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation;

**Moshev A.V.**, Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the RAS, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation.

---

Поступила в редакцию 26.07.2019  
Отправлена на доработку 18.12.2019  
Принята к печати 14.03.2020

---

Received 26.07.2019  
Revision received 18.12.2019  
Accepted 14.03.2020

# СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА У ДЕТЕЙ

Н.М. Агарков<sup>1,3</sup>, А.С. Макарян<sup>2</sup>, И.С. Гонтарева<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Юго-Западный государственный университет, г. Курск, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВПО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, Россия

**Резюме.** У детей и подростков хронический пародонтит занимает ведущее место в структуре стоматологической патологии. Развитие хронического пародонтита сопровождается возникновением различных осложнений челюстно-лицевой области, приводящих к нарушению прикуса, что имеет актуальное значение для больных детского возраста. Возникновение данных и других осложнений связано с незрелостью иммунной системы детей и подростков и вирулентностью микроорганизмов. Однако иммунологические изменения, развивающиеся у детей с хроническим пародонтитом, остаются недостаточно изученными. Цель работы — совершенствование диагностики хронического пародонтита у детей и подростков на основе информативных показателей системного иммунитета и дискриминантных моделей, учитывающих данные изменения. На точном цитофлюориметре и иммуноферментным анализом исследован системный иммунитет у 127 детей и подростков от 12 до 16 лет с хроническим пародонтитом. Контролем служили 108 пациентов аналогичного возраста без явной соматической и стоматологической патологии. Построение математических моделей проводилось дискриминантным методом, а определение информативности — по общепринятой формуле. Среди иммунологических показателей у больных детей хроническим пародонтитом наибольшей информативностью обладают относительное и абсолютное содержание в периферической крови кластеров CD13<sup>+</sup>, занимающих соответственно первое и второе ранговое место со значительным превосходством величины информативности для относительного содержания CD13<sup>+</sup>. Высокий уровень информативности, свидетельствующий о выраженности произошедших патологических изменений и диагностической значимости для хронического пародонтита у детей, свойственен относительному содержанию CD8<sup>+</sup> в периферической крови, величина которого незначительно ниже, чем у абсолютного количества CD13<sup>+</sup>. Наименьшей информативностью среди анализируемых иммунологических отклонений у больных хроническим пародонтитом обладают параметры системного гуморального иммунитета. Это относится ко всем изученным иммуноглобулинам в крови. Построенные дискриминантные модели по наиболее информативным иммунологическим показателям обеспечивают адекватную для медицинских задач диагностику хронического пародонтита в детском возрасте. Диагностическая чувствительность созданных математических моделей высокая и достигает 0,94, а диагностическая специфичность равна 0,92. Иммунологическое обследование пациентов улучшает диагностику хронического пародонтита. Установлено снижение иммунного статуса у больных с хроническим пародонтитом. При этом в наибольшей степени произошло уменьшение содержания в периферической крови абсолютного и относительного количества CD3<sup>+</sup> лимфоцитов. Установлено так же репрезентативное снижение при хроническом пародонтите у детей параметров гуморального иммунитета.

**Ключевые слова:** диагностика хронического пародонтита, системный иммунитет, дискриминантный метод, дети.

---

**Адрес для переписки:**

Агарков Николай Михайлович  
305040, Россия, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94,  
ФГБОУ ВО Юго-Западный государственный университет.  
Тел.: 8 910 740-96-13.  
E-mail: vitalaxen@mail.ru

**Contacts:**

Nikolay M. Agarkov  
305040, Russian Federation, Kursk, 50 years of October str., 94,  
South-West State University.  
Phone: +7 910 740-96-13.  
E-mail: vitalaxen@mail.ru

**Библиографическое описание:**

Агарков Н.М., Макарян А.С., Гонтарева И.С. Совершенствование диагностики хронического пародонтита у детей // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 558–564. doi: 10.15789/2220-7619-ADO-1186

**Citation:**

Agarkov N.M., Makaryan A.S., Gontareva I.S. Advancing diagnostics of chronic parodontitis in children // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 558–564. doi: 10.15789/2220-7619-ADO-1186

## ADVANCING DIAGNOSTICS OF CHRONIC PARADONTITIS IN CHILDREN

Agarkov N.M.<sup>a,c</sup>, Makaryan A.S.<sup>b</sup>, Gontareva I.S.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> South-West State University, Kursk, Russian Federation

<sup>b</sup> Russian Peoples Friendship University, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> Belgorod State University, Belgorod, Russian Federation

**Abstract.** Chronic periodontitis in children and adolescents holds a lead place in morbidity pattern of dental pathology. Development of chronic periodontitis is accompanied by emergence of various complications in the maxillofacial region, leading to bite disturbance being of high relevance for pediatric patients. These and other complications are related to immune system immaturity in children and adolescents as well as virulence of microorganisms. However, the immunological changes developing in children with chronic periodontitis remain poorly studied. The aim of the work was to improve diagnostics of chronic periodontitis in children and adolescents based on informative parameters of systemic immunity and discriminative models taking into account such changes. We examined systemic immunity in 127 children and adolescents with chronic periodontitis, aged 12 to 16 years, by using flow cytometry and enzyme immunoassay. In control group, age-matched 108 patients lacking overt somatic and dental pathology were enrolled. Generation of mathematical models was carried out by using a discriminative approach, whereas informativeness was assessed in accordance with generally accepted formula. Relative and absolute count of peripheral blood CD13<sup>+</sup> cells exert the peak informativeness holding the first and second ranking places with marked dominance of informativeness value for assessing relative amount of CD13<sup>+</sup> cells are among immunological parameters in children with chronic periodontitis. High informativeness value evidencing about pronounced intensity of developed pathological changes and diagnostic significance for chronic periodontitis in children is intrinsic to the relative percentage of peripheral blood CD8<sup>+</sup> cells being slightly lower than that one in absolute count of CD13<sup>+</sup> cells. On the other hand, humoral immune-parameters were of lowest informative value among all analyzed immunological parameters in patients with chronic periodontitis serum referring to all antibody classes. Generated discriminative models for the most valuable immunological parameters ensure adequate medical diagnostics for chronic periodontitis in childhood. Diagnostic sensitivity for created mathematical models was high and reached 0.94, whereas diagnostic specificity — 0.92. Immunological examination of patients improves diagnostics of chronic periodontitis. It was found that patients with chronic periodontitis had lowered immune status peaking in decreased absolute and relative count of peripheral blood CD3<sup>+</sup> lymphocytes. Finally, parameters of humoral immunity in children with chronic periodontitis were also reduced.

**Key words:** *diagnostics of chronic periodontitis, systemic immunity, discriminative method, children.*

Хронический пародонтит (ХП) в структуре стоматологической заболеваемости детей и подростков занимает одно из ведущих мест и характеризуется неуклонной тенденцией к повышению распространенности в современных условиях [1, 5, 11]. Обострение ХП сопровождается развитием различных осложнений челюстно-лицевой области (абсцесс, флегмона, лимфаденит и др.), служащих причиной другой воспалительной патологии зубочелюстной системы, приводящей в ряде случаев к потере зубов, деформации зубного ряда, нарушению прикуса. Такое течение обострения ХП в детском возрасте обусловлено развитием патологического процесса в морфологически и функционально незрелых тканях пародонта, а также несовершенством иммунной системы ребенка и вследствие этого неадекватной реакции на возникший воспалительный очаг. Однако вовлечение иммунной системы в деструктивно-воспалительный процесс при ХП у детей и подростков редко рассматривается клиницистами как важнейший аспект системных проявлений заболевания и один из этапов и методов диагностики.

Иммунологические нарушения, возникающие при обострении ХП в данном возрасте, остаются практически неизученными и редко используются

при диагностике указанного заболевания. Вместе с тем выявление изменений системного иммунитета при развитии и обострении ХП у детей и подростков повысит точность его диагностики. Совершенствованию диагностического процесса при ХП в названных возрастных группах будет способствовать определение информативности иммунологических нарушений.

Целью исследования является совершенствование диагностики ХП у детей и подростков на основе информативных показателей системного иммунитета и дискриминантных моделей, учитывающих данные изменения.

## Материалы и методы

При осуществлении диагностики ХП рассматривались: субъективные симптомы, объективные клинические симптомы, индивидуальные гигиенические индексы состояния полости рта, общий анализ крови, клеточный и гуморальный иммунитет.

В настоящей статье подробно представлены параметры системного клеточного и гуморального иммунитета, а клинические симптомы и гигиенические индексы являются основой других публикаций.

Указанные признаки изучены у 127 детей и подростков в возрасте от 12 до 16 лет с ХП средней и тяжелой степени, получавшие медицинскую помощь в детской городской стоматологической поликлинике Белгорода в 2016–2017 гг., составивших основную группу. Длительность течения ХП в среднем в указанной возрастной группе составила  $19,8 \pm 2,5$  дней. Контролем служили 108 пациентов аналогичного возраста без явной соматической и стоматологической патологии.

Субпопуляции иммунных клеток выделяли из гепаринизированной периферической крови на проточном цитофлуориметре «CytomicsFC 500» (США). Иммунологические исследования периферической крови включали определение фенотипического кластера дифференцировки —  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD13^+$ .

Определение иммуноглобулинов в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа с применением тест-систем с моноклональными антителами к человеческим иммуноглобулинам (система «Полигност», Россия).

**Таблица 1. Показатели системного иммунитета при ХП среди детей и подростков**

Table 1. Indicators of systemic immunity in CP among children and adolescents

Показатель, единица измерения Indicator, unit	Основная группа The main group n = 127	Контрольная группа The control group n = 106	P
$CD3^+$ , % $CD3^+$ , %	$29,7 \pm 1,5$	$75,4 \pm 2,4$	< 0,001
$CD3^+$ , $\times 10^9/л$ $CD3^+$ , $\times 10^9/л$	$0,52 \pm 0,04$	$1,71 \pm 0,03$	< 0,001
$CD4^+$ , % $CD4^+$ , %	$32,7 \pm 1,9$	$47,5 \pm 2,1$	< 0,001
$CD4^+$ , $\times 10^9/л$ $CD4^+$ , $\times 10^9/л$	$0,63 \pm 0,03$	$1,13 \pm 0,04$	< 0,001
$CD8^+$ , % $CD8^+$ , %	$3,67 \pm 0,2$	$18,2 \pm 1,5$	< 0,001
$CD8^+$ , $\times 10^9/л$ $CD8^+$ , $\times 10^9/л$	$0,41 \pm 0,04$	$0,82 \pm 0,06$	< 0,001
$CD13^+$ , % $CD13^+$ , %	$0,05 \pm 0,01$	$2,11 \pm 0,02$	< 0,001
$CD13^+$ , $\times 10^9/л$ $CD13^+$ , $\times 10^9/л$	$1,22 \pm 0,04$	$25,7 \pm 2,4$	< 0,001
ЦИК, у.е. CIC, cu	$2,63 \pm 0,14$	$1,85 \pm 0,13$	< 0,01
IgA, г/л IgA, g/l	$1,5 \pm 0,09$	$1,8 \pm 0,07$	< 0,05
IgG, г/л IgG, g/l	$7,2 \pm 0,5$	$8,1 \pm 0,4$	> 0,05
IgM, г/л IgM, g/l	$1,6 \pm 0,09$	$1,4 \pm 0,08$	> 0,05

Информативность рассматриваемых иммунологических показателей по Кульбаку рассчитывалась по формуле:

$$J = 10 \lg \frac{P_1}{P_2} \times 0,5 \times (P_1 - P_2),$$

где  $J$  — информативность показателя,  $P_1$  — встречаемость показателя в контрольной группе,  $P_2$  — встречаемость этого же показателя в основной группе [8].

Далее для построения математических моделей применялся дискриминантный метод. Разрабатывались математические модели для поддержки принятия решений по диагностике ХП по наиболее информативным симптомам.

В нашем исследовании дети, больные ХП, относились ко второму классу и обозначались  $G_2:1$ . Практически здоровые лица относились к первому классу биообъектов и обозначались  $G_1:0$ . Для проверки адекватности разработанных дискриминантных моделей рассчитывались расстояние Махаланобиса, диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность. Расстояние Махаланобиса определялась в соответствии с рекомендациями С.А. Айвазяна, В.С. Мхитаряна [4]. Построение математических моделей проводилось на ЭВМ с использованием программы «Statistica 6.0». При оценке достоверности различий применялись критерий Стьюдента и Т-критерий Уайта.

## Результаты и обсуждение

Диагностическое исследование иммунного статуса пациентов с ХП выявило его снижение, причем по некоторым параметрам значительное угнетение (табл. 1). Так, установлено резкое снижение в периферической крови больных ХП абсолютного и относительного количества  $CD13^+$  лимфоцитов с более выраженным снижением процентного содержания данного кластера дифференцировки ( $P < 0,001$ ). Значительное уменьшение содержания в периферической крови характерно для иммунокомпетентных клеток, относящихся к классу  $CD8^+$ , как в абсолютном, так и относительном измерении. Наблюдается также при ХП в детском и подростковом возрасте уменьшение абсолютного и относительного содержания  $CD3^+$  лимфоцитов и  $CD4^+$  лимфоцитов. Произошло репрезентативное уменьшение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), уменьшение IgA. Однако количество IgG и IgM у больных ХП по сравнению с контрольной группой практически не претерпело достоверных изменений.

Хронический пародонтит — наиболее часто встречающаяся патология у детей 6–14 лет в Казахстане, России и других странах. В диагностике ХП важное значение в последнее вре-

мя отводится иммунологическим и клинико-лабораторным исследованиям [1, 2, 9, 10, 15, 17]. Хронический и длительно текущий воспалительный процесс в пародонте часто сопровождается изменением показателей как клеточного, так и гуморального иммунитета [12, 14]. В связи с этим все большую роль в диагностике ХП приобретают иммунологические исследования, позволяющие оценить состояние специфической и неспецифической защиты организма [12].

Анализ Т-клеточного звена иммунной системы больных ХП выявил наличие  $12,14 \pm 3,22\%$  клеток с фенотипом  $CD3^+CD4^-CD8^-$ , что значительно больше, чем у здоровых доноров. Показано, что увеличение содержания в крови лимфоцитов с таким фенотипом характерно для воспалительных процессов различного генеза и возникает при функциональной недостаточности антигенпрезентирующих клеток. На фоне этого дефицита после избирательного связывания рецептора  $CD4$  Т-хелперная клетка продолжает существовать физически, хотя данный рецептор исчезает с мембраны лимфоцита и образуется вторичная дважды негативная клетка ( $CD3^+CD4^-CD8^-$ ). Содержание естественных киллерных клеток ( $CD16^-$  клетки) у больных ХП не увеличено, однако доля их активированных форм ( $CD56^+$  клетки) повышена вдвое [6], что отражает интенсивный активационный процесс в иммунной системе [6, 16, 18, 19].

Получены доказательства, что у больных ХП с типичными формами в крови снижается содержание Т- и В-лимфоцитов, а также Т-лимфоцитов-хелперов [13]. Одновременно резко возрастает число естественных киллеров ( $CD16^+$ ) и цитотоксических Т-лимфоцитов ( $CD8^+$ ). Это указывает на повышенную агрессивность клеток иммунной системы и может способствовать развитию клеточных иммунопатологических реакций. Повышение супрессорной активности рассматривается как реакция организма, направленная на подавление хронического воспалительного процесса в пародонте.

Изменения в В-клеточном звене иммунной системы у больных ХП характеризуются тем, что относительное содержание В-лимфоцитов в ( $CD20^+$  клеток) увеличено в 2,3 раза. Анализ субпопуляционного состава В-лимфоцитов выявил увеличение содержания в крови разных субпопуляций В-лимфоцитов, экспрессирующих мембранный IgM и IgG. При этом в большей степени увеличено содержание в крови лимфоцитов, экспрессирующих мембранный IgM. В то же время количество лимфоцитов, способных развивать высокоинтенсивный синтез иммуноглобулинов ( $CD72^+$  лимфоциты),

и лимфоцитов, экспрессирующих тяжелые цепи IgG, увеличено в меньшей степени — в среднем в 1,4 раза. Вместе с тем количество непосредственных предшественников плазматических клеток ( $CD38^+$  лимфоциты) снижено в 1,4 раза по сравнению с таковым у здоровых доноров [6].

Сопоставление результатов исследования системного гуморального иммунитета здоровых и больных ХП лиц выявило увеличение у последних содержания IgG, IgM, IgA и ЦИК [3]. Однако концентрация sIgA в слюне оказалась повышенной в 26,5% случаев и пониженной в 17,6% случаев среди больных ХП [12]. У подростков с ХП легкой степени концентрация sIgA в ротовой жидкости в среднем составляет  $0,7 \pm 0,02$  г/л, при тяжелой степени ХП —  $0,97 \pm 0,08$  г/л, при концентрации  $0,248 \pm 0,024$  г/л у здоровых подростков [13]. Поэтому вопрос о достоверности sIgA в диагностике ХП остается спорным [12].

Между отдельными показателями системного иммунитета и основными объективными симптомами больных ХП установлены достоверные корреляционные связи. Так, между

**Таблица 2. Информативность показателей системного иммунитета у больных ХП**

Table 2. Informational content of systemic immunity parameters in patients with CP

Показатель, единица измерения Indicator, unit	Величина информативности Informative value	Место при ранжировании Ranking location
$CD3^+$ , % $CD3^+$ , %	604,085	4
$CD3^+, \times 10^9/л$ $CD3^+, \times 10^9/л$	587,625	5
$CD4^+$ , % $CD4^+$ , %	521,975	6
$CD4^+, \times 10^9/л$ $CD4^+, \times 10^9/л$	478,347	8
$CD8^+$ , % $CD8^+$ , %	922,433	3
$CD8^+, \times 10^9/л$ $CD8^+, \times 10^9/л$	496,511	7
$CD13^+$ , % $CD13^+$ , %	1287,742	1
$CD13^+, \times 10^9/л$ $CD13^+, \times 10^9/л$	986,115	2
ЦИК, у.е. CIC, cu	435,068	9
IgA, г/л IgA, g/l	217,362	10
IgG, г/л IgG, g/l	54,708	12
IgM, г/л IgM, g/l	83,524	11

**Таблица 3. Расстояние Махаланобиса между исследуемыми классами биообъектов по параметрам системного иммунитета**

Table 3. The distance of Mahalanobis between the studied classes of biological objects by the parameters of systemic immunity

Код признака Feature code	Observed	G_1:0	G_2:1
1	G_1:0	2,486	58,257
2	G_1:0	5,141	61,035
3	G_1:0	3,708	70,466
4	G_1:0	1,353	36,981
5	G_1:0	1,148	28,204
6	G_1:0	2,212	26,009
7	G_1:0	1,917	26,761
8	G_1:0	2,349	27,243
9	G_2:1	42,364	43,725
10	G_2:1	38,186	10,246
11	G_2:1	30,980	0,413
12	G_2:1	28,096	0,893
13	G_2:1	45,293	2,705
14	G_2:1	32,307	6,196
15	G_2:1	52,185	5,324
16	G_2:1	51,376	4,860

относительным содержанием CD13<sup>+</sup> выявлена прямая сильная корреляционная связь с глубиной пародонтального кармана ( $r = +0,805$ ,  $P < 0,01$ ), с кровоточивостью десен ( $r = +0,724$ ,  $P < 0,01$ ) и степенью потери зубодесневого прикрепления ( $r = +0,713$ ,  $P < 0,05$ ). Абсолютное количество клеток CD13<sup>+</sup> имеет с кровоточивостью десен сильную корреляционную связь ( $r = +0,735$ ,  $P < 0,01$ ), среднюю связь с глубиной пародонтального кармана ( $r = +0,657$ ,  $P < 0,01$ ) и отечностью десен ( $r = +0,512$ ,  $P < 0,05$ ). Относительное содержание в крови CD8<sup>+</sup> находится в средней корреляционной связи с глубиной пародонтального кармана ( $r = +0,434$ ,  $P < 0,05$ ) и кровоточивостью десен ( $r = +0,524$ ,  $P < 0,05$ ). Между абсолютным и относительным содержанием CD3<sup>+</sup> и степенью потери зубодесневого прикрепления, кровоточивостью десен выявлены прямые средние корреляционные связи. Слабой корреляционной связью характеризуются изменения иммуноглобулинов крови и объективные симптомы.

Вычисление информативности Кульбака для изученных нами иммунологических показателей свидетельствует о максимальной величине для процентного содержания класса CD13<sup>+</sup> (табл. 2). Вторую ранговую позицию занимает этот же кластер дифференцировки иммунокомпетентных клеток в абсолютном выражении и с значительно меньшей величиной.

Высокая мера информативности установлена для относительного содержания в периферической крови у больных ХП кластера CD8<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>. Значительную величину информативности имеют абсолютное количество CD3<sup>+</sup> лимфоцитов и CD4<sup>+</sup> лимфоцитов. Приблизительно равной и существенной величиной Кульбака обладает абсолютное количество CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> лимфоцитов. Низкие величины информативности свойственны параметрам гуморального иммунитета — IgG и IgM.

Проведение анализа информативности лабораторных методов и иммунологических изменений у больных ХП, по мнению А.Р. Горкуновой и соавт. [7], позволяет разработать и обосновать алгоритм диагностики данного заболевания с использованием наиболее информативных иммунологических показателей. К числу таких показателей авторы относят лизоцим как достаточно объективный и информативный параметр иммунитета, который может служить диагностическим и прогностическим критерием в клинической лабораторной диагностике ХП.

В соответствии с результатами информативности иммунологических параметров системного иммунитета, представленными в таблице 2, проведено построение математических моделей по высокоинформативным кластерам. Для больных ХП детского и подросткового возраста нами разработана математическая модель:

$$y_{10} = 12,483x_{12} + 69,892x_{13} - 8,653x_{14} - 487,123,$$

где  $y_{10}$  — больные ХП,  $x_{12}$  — процентное содержание CD13<sup>+</sup>,  $x_{13}$  — абсолютное количество CD13<sup>+</sup>,  $x_{14}$  — относительное содержание CD8<sup>+</sup>.

При применении данных информативных параметров клеточного иммунитета на системном уровне и дискриминантного метода для класса здоровых лиц нами разработана математическая модель:

$$y_9 = 12,126x_{12} + 51,288x_{13} - 4,671x_{14} - 541,280,$$

где  $y_9$  — практически здоровые дети и подростки,  $x_{12}$  — процентное содержание CD13<sup>+</sup>,  $x_{13}$  — абсолютное количество CD13<sup>+</sup>,  $x_{14}$  — относительное содержание CD8<sup>+</sup>.

Адекватность и работоспособность синтезированных дискриминантных моделей подтверждается расчетами расстояния Махаланобиса по исследованным иммунологическим показателям (табл. 3). Дискриминантные модели показывают, что количество ошибочно классифицированных больных ХП, отнесенных к классу практически здоровых, достигает 8,2%. Процент практически здоровых детей и подростков, ошибочно включенных в группу больных ХП, составляет 8,8%. Эти результаты указывают на то, что разработанные математические модели отличаются высоким уровнем безошибочной

классификации исследуемых биообъектов и их можно эффективно применять для выявления ХП в рассматриваемой популяции по содержанию в периферической крови кластеров CD13<sup>+</sup> лимфоцитов и CD8<sup>+</sup> лимфоцитов.

Определение диагностической чувствительности построенных математических моделей показало, что последняя достигает 0,94. При этом диагностическая специфичность математических моделей по показателям иммунитета в периферической крови соответствует 0,92.

## Заключение

Лабораторное исследование у детей и подростков, страдающих ХП, комплекса показателей системного клеточного и гуморального им-

мунитета с оценкой их информативности позволяет объективно утверждать ведущую роль в диагностике этого заболевания параметров клеточного звена иммунной системы и, в частности, абсолютного и относительного содержания кластеров CD13<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup> относительного содержания CD8<sup>+</sup>. Созданные нами дискриминантные модели, наряду с наиболее информативными показателями клеточного системного иммунитета, улучшают информационную поддержку принятия решений стоматолога при диагностике ХП.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы/References

1. Агарков Н.М., Гонтарев С.Н., Гонтарева И.С., Луценко В.Д., Яковлев А.П. Моделирование сдвигов и корреляционных связей гематологических и иммунологических показателей у больных хроническим генерализованным пародонтитом // *Стоматология*. 2016. № 6. С. 12–16. [Agarkov N.M., Gontarev S.N., Gontareva I.S., Lutsenko V.D., Yakovlev A.P. Simulation of changes and correlations of hematological and immunological parameters in patients with chronic generalized periodontitis. *Stomatologiya = Dentistry*, 2016, no. 6, pp. 12–16. doi: 10.17116/stomat.201695612-16 (In Russ.)]
2. Агарков Н.М., Ткаченко П.В., Замулин Д.О., Аксенов В.В., Гонтарева И.С., Кича Д.И., Мишенин М.О. Прогнозирование развития периапикального абсцесса при хроническом пародонтите у детей по параметрам крови и клеточного иммунитета // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018. Т. 63, № 1. С. 31–34. [Agarkov N.M., Tkachenko P.V., Zamulin D.O., Aksyonov V.V., Gontareva I.S., Kicha D.I., Mishenin M.O. Prediction of the development of periapical abscess in chronic periodontitis in children according to the parameters of blood and cellular immunity. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2018, vol. 63, no. 1, pp. 31–34. (In Russ.)]
3. Адамчик А.А., Арутюнов А.В. Оценка иммунологического статуса пациентов при лечении хронического генерализованного пародонтита на фоне иммунокорректора // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014. № 2. С. 14–19. [Adamchik A.A., Arutyunov A.V. Assessment of the immunological status of patients in the treatment of chronic generalized periodontitis on the background of immunocorrector. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research*, 2014, no. 2, pp. 14–19 (In Russ.)]
4. Айвазян С.А., Мхитарян В.С. Теория вероятностей и прикладная статистика: методические указания. М.: Юнити-Дана, 2001. 656 с. [Ayvazian S.A., Mkhitaryan V.S. Probability theory and applied statistics. Moscow: Yuniti-Dana, 2001. 656 p. (In Russ.)]
5. Булгаков М.Г., Хацкевич Г.А. Заболеваемость зубочелюстной области у детей и организация специализированной помощи (обзор литературы) // *Институт стоматологии*. 2001. № 2. С. 74–76. [Bulgakov M.G., Khatskevich G.A. The incidence of the dentition in children and the organization of specialized care (literature review). *Institut stomatologii = Institute of Dentistry*, 2001, no. 2, pp. 74–76. (In Russ.)]
6. Воложин А.И., Порядин Г.В., Казимирский А.Н. Иммунологические нарушения в патогенезе хронического генерализованного пародонтита // *Стоматология*. 2005. № 3. С. 4–7. [Volozhin A.I., Orderin G.V., Kazimirsky A.N. Immunological disorders in the pathogenesis of chronic generalized periodontitis. *Stomatologiya = Dentistry*, 2005, no. 3, pp. 4–7. (In Russ.)]
7. Горкунова А.Р., Совмиз М.М., Быкова Н.И., Еремина Т.В., Хвостова Т.С., Самойлик Н.И. Изменение показателей иммунной защиты в ротовой жидкости при хроническом генерализованном пародонтите // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015. № 3–4. С. 567–570. [Gorkunova A.R., Sovmiz M.M., Bykova N.I., Eremina T.V., Khvostova T.S., Samoylik N.I. Changes in the indicators of immune protection in the oral fluid in chronic generalized periodontitis. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research*, 2015, no. 3–4, pp. 567–570. (In Russ.)]
8. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л.: Медицина, 1973. 144 с. [Gubler E.V., Genkin A.A. Application of nonparametric criteria of statistics in biomedical research. Leningrad: Medical, 1973. 144 p. (In Russ.)]
9. Доменюк Д.А., Карслиева А.Г., Ташуева Л.В. Корреляция содержания микроэлементов и иммуноглобулина Е в смешанной слюне у детей на этапах ортодонтического лечения с использованием базисных материалов // *Кубанский научный медицинский вестник*. 2014. Т. 2, № 144. С. 35–42. [Domenyuk D.A., Karслиyeva A.G., Tashueva L.V. The correlation of the content of microelements and immunoglobulin E in mixed saliva in children at the stages of orthodontic treatment using basic materials. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik = Kuban Scientific Medical Herald*, 2014, vol. 2, no. 144, pp. 35–42. (In Russ.)]

10. Каркимбаева Г.А., Рысбаева Ж.И., Ермуханова Г.Т., Асанова Д.Б. Клинико-лабораторная характеристика воспалительных заболеваний пародонта детей Кызылординской области // Вестник КазНМУ. 2017. № 4. С. 141–144. [Karkimbayeva G.A., Rysbaeva Zh.I., Ermukhanova G.T., Asanova D.B. Clinical and laboratory characteristics of inflammatory periodontal diseases of children in the Kyzylorda region. *Vestnik KazNMU = Bulletin of KazNMU*, 2017, no. 4, pp. 141–144. (In Russ.)]
11. Лебідь О. Клінічні особливості ураження тканин пародонта у дітей з надмірною масою тіла // Світ медицини та біології. 2013. Т. 2, № 38. С. 216–217. [Lebid O. Klinichni osoblivost urazhennya fabric on parodont in children with the supernatural mass of the body. *Svitmedicini ta biologii = World of Medicine and Biology*, 2013, vol. 2, no. 38, pp. 216–217. (In Ukrainian)]
12. Саркисян Н.Г., Ронь Г.И., Тузанкина И.А. Оценка концентрации секреторного и сывороточного иммуноглобулина А при пародонтите // Пародонтология. 2014, № 2. С. 6–8. [Sargsyan N.G., Rony G.I., Tuzankina I.A. Evaluation of the concentration of secretory and serum immunoglobulin A in periodontitis. *Parodontologiya = Periodontics*, 2014, no. 2, pp. 6–8. (In Russ.)].
13. Усманова И.Н., Герасимова Л.П., Кабирова М.Ф., Хуснарязанова Р.Ф., Усманов И.Р. Особенности неинвазивной диагностики сбалансированности факторов местного иммунитета при хронических воспалительных заболеваниях пародонта у лиц молодого возраста, проживающих в регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды // Вестник РУДН. Серия: Медицина. 2014. № 2. С. 89–94. [Usmanova I.N., Gerasimov L.P., Kabirova M.F., Khusnarizanova R.F., Usmanov I.R. Features of non-invasive diagnosis of the balance of local immunity factors in chronic inflammatory periodontal diseases in young people living in a region with adverse environmental factors. *Vestnik RUDN. Seriya: Medicina = Bulletin of RUDN. Medicine Series*, 2014, no. 2, pp. 89–94. (In Russ.)]
14. Фомичев И.В., Флейшер Г.М. Иммунологические аспекты применения препарата «Имудон» в комплексной терапии воспалительных заболеваний пародонта // Медицинский алфавит. Стоматология. 2014. № 1. С. 45–50. [Fomichev I.V., Fleisher G.M. Immunological aspects of the use of the drug “Imudon” in the treatment of inflammatory periodontal diseases. *Meditsinskii alfavit. Stomatologiya = Medical Alphabet. Dentistry*, 2014, no. 1, pp. 45–50. (In Russ.)]
15. Dashash M., Drucker D.B., Hutchinson I.V., Bazrafshani M.R., Blinkhorn A.S. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and gingivitis in children. *Oral. Dis.*, 2007, vol. 13, no. 3, pp. 308–313. doi: 10.1111/j.1601-0825.2006.01285.x
16. Demir T., Orbak R., Tezel A., Canakç V., Kaya H. The changes in the T-lymphocyte subsets in a population of Turkish children with puberty gingivitis. *Int. J. Paediatr. Dent.*, 2009, vol. 19, no. 3, pp. 206–212. doi: 10.1111/j.1365-263X.2007.00911.x
17. Holla L.I., Musilova K., Vokurka J., Klapusová L., Pantuckova P., Kukletova M., Kukla L., Znojil V. Association of interleukin-6 (IL-6) haplotypes with plaque-induced gingivitis in children. *Acta Odontol. Scand.*, 2008, vol. 66, no. 2, pp. 105–112. doi: 10.1159/000351689
18. Sharma S., Saimbi C.S., Koirala B., Shukla R. Effect of various mouthwashes on the levels of interleukin-2 and interferon-gamma in chronic gingivitis. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, 2008, vol. 32, no. 2, pp. 111–114.
19. Tsilingaridis G., Yucel-Lindberg T., Concha Quezada H. The relationship between matrix metalloproteinases (MMP-3, -8, -9) in serum and peripheral lymphocytes (CD8+, CD56+) in Down syndrome children with gingivitis. *J. Periodontal Res.*, 2014, vol. 49, no. 6, pp. 742–750.

**Авторы:**

**Агарков Н.М.**, д.м.н., профессор, профессор кафедры биомедицинской инженерии Юго-Западного государственного университета, г. Курск, Россия; старший научный сотрудник лаборатории «Проблемы старения» Белгородского государственного национального исследовательского университета, г. Белгород, Россия;  
**Макарян А.С.**, к.м.н., доцент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и гигиены Российского университета дружбы народов, Москва, Россия;  
**Гонтарева И.С.**, ассистент кафедры детской стоматологии Белгородского государственного национального исследовательского университета, г. Белгород, Россия.

**Authors:**

**Agarkov N.M.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Professor of the Department of Biomedical Engineering, South-West State University, Kursk, Russian Federation; Senior Researcher, “Problems of Aging” Laboratory, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russian Federation;  
**Makaryan A.S.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Public Health, Health and Hygiene, Peoples’ Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation;  
**Gontareva I.S.**, Assistant Professor, Department of Pediatric Dentistry, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russian Federation.

Поступила в редакцию 22.04.2019  
 Отправлена на доработку 05.06.2019  
 Принята к печати 14.03.2020

Received 22.04.2019  
 Revision received 05.06.2019  
 Accepted 14.03.2020

# ДЕТЕКЦИЯ МЕЖДУНАРОДНЫХ КЛОНОВ ВЫСОКОГО РИСКА *SALMONELLA* И *ESCHERICHIA COLI* — ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ С ПИЩЕВЫМИ ПРОДУКТАМИ, В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Л.А. Кафтырева<sup>1,2</sup>, С.А. Егорова<sup>1</sup>, М.А. Макарова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Использование полногеномного секвенирования, стандартизованных методов анализа и международных баз данных позволяет проводить детекцию международных клонов высокого риска возбудителей заболеваний, передающихся с пищевыми продуктами, оценивать их эволюцию, географическое распространение вследствие международной торговли продуктами и сельскохозяйственными животными. В Санкт-Петербурге (Российская Федерация), от пациентов с диарейным синдромом впервые выявлены штаммы *Salmonella* Newport, *Salmonella* Kentucky и *Escherichia coli* O26:H11, принадлежащие к известным международным клонам высокого риска. Два штамма *S. Kentucky*, выделенные в 2015 и 2019 г., были идентичны международному клону ST198, широко распространенному в европейских странах: имели множественную резистентность к антибиотикам, устойчивость высокого уровня к фторхинолонам (МПК ципрофлоксацина более 32,0 мг/л) вследствие трех однонуклеотидных замен в генах *gyrA* (Ser83Phe и Asp87Asn) и *parC* (Ser80Ile). В 2008 г. выделен полирезистентный штамм *S. Newport*, относящийся к международному клону *S. Newport* MDR-AmpC/CMY-2, вызывавшему спорадические случаи и вспышки сальмонеллез в США и Европе в 2000-е гг. Устойчивость штамма к цефалоспорином расширенного спектра обусловлена продукцией AmpC-цефалоспориноазы CMY-2. Плазмида, содержащая ген *bla*<sub>CMY-2</sub>, имела PstI-рестрикционный профиль, описанный у штаммов международного клона. Штаммы *E. coli* O26:H11, выделенные в Санкт-Петербурге, продуцировали шигаподобный токсин STX1 (ген *stx1a*), имели дополнительные гены, кодирующие факторы вирулентности: *ehxA* (энтерогемолизин), *katP* (каталаза-пероксидаза), *espP* (сериновая протеаза), а также *cba* (колицин В), *gad* (глутамат декарбоксилаза), *cif* (эффektor секреции III типа), *iss* (устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови), принадлежали к филогенетической группе В1 и международному клону *E. coli* O26:H11 ST21, широко распространенному в Европе и США. 25% штаммов характеризовались множественной устойчивостью к антибиотикам, продуцировали бета-лактамазы расширенного спектра СТХ-М. В Российской Федерации *E. coli* O26 входит в перечень возбудителей диарейных заболеваний, которые в рутинной практике диагностических лабораторий без определения Н-антигена и продукции шигаподобного токсина, регистрируют как энтеропатогенные эшерихии.

**Ключевые слова:** *S. Newport*, MDR-AmpC, *S. Kentucky*, ST198, *E. coli*, EHEC, O26:H11, ST21, международный клон высокого риска.

## Адрес для переписки:

Кафтырева Лидия Алексеевна  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.  
Тел.: 8 (812) 232-48-83 (служебн.).  
E-mail: kaflidia@mail.ru

## Contacts:

Lidiia A. Kaftyreva  
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,  
St. Petersburg Pasteur Institute.  
Phone: +7 (812) 232-48-83 (office).  
E-mail: kaflidia@mail.ru

## Библиографическое описание:

Кафтырева Л.А., Егорова С.А., Макарова М.А. Детекция международных клонов высокого риска *Salmonella* и *Escherichia coli* — возбудителей заболеваний, передающихся с пищевыми продуктами, в Российской Федерации // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 565–569.  
doi: 10.15789/2220-7619-DOI-1506

## Citation:

Kaftyreva L.A., Egorova S.A., Makarova M.A. Detection of international high-risk clones of food-borne pathogens *Salmonella* and *Escherichia coli* in the Russian Federation // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 565–569. doi: 10.15789/2220-7619-DOI-1506

## DETECTION OF INTERNATIONAL HIGH-RISK CLONES OF FOOD-BORNE PATHOGENS *SALMONELLA* AND *ESCHERICHIA COLI* IN THE RUSSIAN FEDERATION

Kafyryeva L.A.<sup>a,b</sup>, Egorova S.A.<sup>a</sup>, Makarova M.A.<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** The use of whole genome sequencing, standardized analytical methods and international databases allows to detect international high-risk clones of food-borne pathogens, assess their evolution and geographical distribution due to international trade of animal food products and farm animals. In Saint Petersburg, Russian Federation, *Salmonella* Newport, *Salmonella* Kentucky and *Escherichia coli* O26:H11 belonging to the well-known international high-risk clones were first identified from patients with diarrhea. Two *S. Kentucky* strains isolated in 2015 and 2019 were identical to the international clone ST198 widely distributed in European countries displaying multidrug resistance, high-level fluoroquinolone resistance (MIC of ciprofloxacin > 32,0 mg/l) due to three single-nucleotide substitutions in the *gyrA* (Ser83Phe and Asp87Asn) and *parC* (Ser80Ile) genes. In 2008, a multidrug resistant *S. Newport* strain resistant to extended-spectrum cephalosporins due to AmpC-cephalosporinase CMY-2 was isolated, belonging to the international clone of *S. Newport* MDR-AmpC/CMY-2, which in the 2000s caused sporadic cases and outbreaks in the USA and Europe. The plasmid carrying the *bla*<sub>CMY-2</sub> gene exerted PstI-restriction profile, one of the most prevalent in the international clone. *E. coli* O26:H11 strains isolated in Saint-Petersburg produced the Shiga-like toxin STX1 (*stx1a*), bearing additional virulence genes: *ehxA* (enterohemolysin), *katP* (catalase peroxidase), *espP* (serine protease) as well as *cba* (colicin B), *gad* (glutamate decarboxylase), *cif* (type III secreted effector), *iss* (increased serum survival), belonged to the phylogenetic group B1 and the international high-risk clone *E. coli* O26:H11 ST21 widely distributed in Europe and the USA. 25% of the strains were characterized by multidrug resistance and produced CTX-M extended spectrum beta-lactamases. In the Russian Federation, *E. coli* O26 strain is considered as the pathogen causing diarrheal diseases and registered in routine practice of bacteriological laboratories as Enteropathogenic *E. coli* without detecting H-antigen and Shiga-like toxins.

**Key words:** *S. Newport*, MDR-AmpC, *S. Kentucky*, ST198, *E. coli*, EHEC, O26:H11, ST21, international high-risk clone.

Безопасность пищевых продуктов оказывает существенное влияние на здоровье населения. Несмотря на проводимые профилактические и противоэпидемические мероприятия, пищевые вспышки, обусловленные патогенными микроорганизмами, общими для человека и животных (*Salmonella*, *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* и др.), ежегодно регистрируются во всех регионах мира, нанося серьезный экономический ущерб. Торговля пищевыми продуктами животного происхождения, осуществляемая в мировом масштабе, способствует быстрому глобальному распространению определенных генетических линий возбудителей заболеваний, которые получили название успешных международных клонов высокого риска. Для отнесения к клону высокого риска штамм должен отвечать следующим требованиям: иметь глобальное распространение, множественную устойчивость к антимикробным препаратам (АМП), повышенную вирулентность, способность вызывать тяжелые заболевания. Особая значимость клонов высокого риска заключается в их высокой выживаемости и способности накапливать детерминанты вирулентности и резистентности к АМП. Возникновению и эволюции успешных клонов способствует применение антибиотиков в сельском хозяйстве для профилактики и лечения инфекций у продуктивных животных.

Цель исследования заключалась в выявлении в Санкт-Петербурге штаммов, принадлежащих к успешным международным клоном высоко-

го риска бактерий *Salmonella enterica* и *Escherichia coli* — возбудителей заболеваний, передающихся с пищевыми продуктами.

## Материалы и методы

Чувствительность к АМП определяли согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Поиск генов, кодирующих механизмы резистентности и вирулентности, проводили методом ПЦР [5, 13], хромосомных мутаций — путем секвенирования фрагментов генов по Сэнгеру [10]. Плазмиды выделяли методом щелочного лизиса, рестриктировали с использованием рестриктазы PstI (BioLabs) [6]. Полногеномное секвенирование проводили на приборе «MiSeq» (Illumina, США), геномные ДНК-библиотеки готовили с использованием набора реагентов «MiSeq Nextera XT Library Preparation Kit» (Illumina, США). Мультилокусное сиквенс-типирование штаммов проводили согласно схемам MLST-типирования, доступным на биоинформатической платформе CGE (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST>).

## Результаты и обсуждение

Оценка чувствительности к АМП штаммов *Salmonella*, выделенных от больных ОКИ в 2008–2019 гг., и детекция молекулярных механизмов резистентности позволила выявить в Санкт-Петербурге штаммы международных

полирезистентных клонов высокого риска, имеющих глобальное распространение и вызывавших пищевые вспышки в странах Европы и США. В 2015 и 2019 г. идентифицированы два штамма *S. Kentucky*, которые имели фенотип множественной резистентности (ампициллин, стрептомицин, гентамицин, хлорамфеникол, сульфаниламиды, фторхинолоны) (один штамм депонирован в «ГКПМ-Оболенск», регистрационный № В-9045). Устойчивость к фторхинолонам достигала высокого уровня (МПК ципрофлоксацина более 32,0 мг/л) и была обусловлена множественными мутациями в хромосомных генах *gyrA* (Ser83Phe и Asp87Asn) и *parC* (Ser80Ple). Большинство штаммов *S. Kentucky*, циркулирующих в настоящее время в мире, являются результатом клональной экспансии одной генетической линии сиквенс-типа 198 (ST198), которая возникла в 1989 г. в Египте в результате приобретения в составе хромосомы островка патогенности с генами резистентности к ампициллину, стрептомицину, гентамицину, сульфаметоксазолу и тетрациклину и множественных мутаций в хромосомных генах *gyrA* и *parC*, обуславливающих устойчивость высокого уровня к фторхинолонам [9]. В 2000-х гг. штаммы клона *S. Kentucky* ST198 с пищевыми продуктами (мясо птицы) распространились в Северную, Южную и Западную Африку, Центральную Азию, Индию, Европу и Канаду. Различные генетические линии этого клона продолжали эволюционировать, приобретая дополнительную плазмидоопосредованную устойчивость к современному АМП: цефалоспорином расширенного спектра (ЦРС) (гены *bla*<sub>CTX-M15</sub>, *bla*<sub>CMY-2</sub>), карбапенемам (*bla*<sub>OXA-48</sub> и *bla*<sub>VIM</sub>) и азитромицину. В странах Евросоюза в настоящее время более 90,0% штаммов этого серовара обладают устойчивостью высокого уровня к фторхинолонам, более 80,0% — имеют фенотип множественной резистентности, около 20,0% штаммов — устойчивы к ЦРС [12]. По данным референс-центра по мониторингу за сальмонеллезами (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) в РФ ежегодно выделяют единичные штаммы *S. Kentucky* (от 2 до 8 штаммов в последние 10 лет), данные о выделении штаммов клона ST198 в РФ отсутствуют. Выделенные нами в Санкт-Петербурге штаммы по фенотипу множественной устойчивости и молекулярному механизму резистентности к хинолонам (профиль множественных хромосомных мутаций) были идентичны международному полирезистентному клону высокого риска *S. Kentucky* ST198.

В 2008 г. в Санкт-Петербурге выделен штамм *S. Newport*, характеризующийся фенотипом множественной устойчивости к АМП (аминопенициллины, ЦРС, хлорамфеникол, тетрациклин, стрептомицин и сульфаниламиды) (депонирован в «ГКПМ-Оболенск», регистрационный номер В-9044). Устойчивость штамма к ЦРС была обусловлена продукцией AmpC-цефалоспоринызы

молекулярного семейства CMY-2. Ген *bla*<sub>CMY-2</sub> находился на плазмиде размером около 150 kb, которая имела *PstI*-рестрикционный профиль, наиболее распространенный у штаммов международного полирезистентного клона высокого риска *S. Newport* MDR-AmpC/CMY-2. Впервые штаммы этого клона были выявлены в США в 1998 г., быстро распространились у людей и крупного рогатого скота (КРС) и в 2000-х гг. составляли до 85,0% всех устойчивых к ЦРС штаммов *Salmonella* в США. Селекции таких штаммов способствовало разрешение на использование цефтиофура в сельском хозяйстве для КРС [4, 14]. Ведущими факторами передачи таких штаммов являются молочная продукция и говядина. В настоящее время в США около 8,0% штаммов *S. Newport* (третий по частоте выделения серовар) устойчивы к 7 из 9 тестируемых классов антибиотиков, продуцируют цефалоспоринызы CMY-2 и относятся к клону *S. Newport* MDR AmpC/CMY-2 [4]. В странах Евросоюза штаммы *S. Newport* MDR-AmpC/CMY-2 выделяли редко, тем не менее во Франции в 2003 г. была зарегистрирована вспышка сальмонеллеза, связанная с употреблением конины, импортированной из США [6]. По данным российского референс-центра по мониторингу за сальмонеллезами серовар *S. Newport* в течение последних 10 лет занимает пятое место в «рейтинге» сероваров *Salmonella* (0,5–0,9%). Ежегодно от людей выделяют от 100 до 200 штаммов этого серовара, данные о выделении в нашей стране штаммов международного клона отсутствуют. Выделенный в ходе нашего исследования штамм *S. Newport* по фенотипу множественной резистентности, молекулярному механизму устойчивости к ЦРС (AmpC-цефалоспориныза CMY-2), рестрикционному профилю плазмиды резистентности соответствовал международному полирезистентному клону высокого риска *S. Newport* MDR-AmpC/CMY-2.

В Российской Федерации *E. coli* O26 входит в перечень возбудителей диарейных заболеваний, которые в рутинной практике клинических диагностических лабораторий регистрируют как энтеропатогенные *E. coli* (ЕPEC) без определения Н-антигена и продукции шигаподобного токсина (STX) [1]. Изучены 24 штамма *E. coli* серовара O26:H11, классифицированные как энтерогеморрагические *E. coli* (ЕHEC), выделенные от пациентов с диарейным синдромом (гемоколитом) в 2014–2019 гг. в Санкт-Петербурге (депонированы в «ГКПМ-Оболенск», регистрационные номера В-7737, В-7738, В-8034). Все штаммы были идентичны: относились к одному ферментативному биовару 1, характеризовались продукцией энтерогемолизина и шигаподобного токсина STX1. Анализ геномов выявил наличие детерминант, кодирующих основные факторы вирулентности ЕHEC: шигаподобный токсин STX1 (ген *stx1a*) и дополнительные гены, кодируемые плазмидой pVF — *ehxA* (энтерогемолизин), *katP*

(каталаза-пероксидаза), *espP* (сериновая протеаза), а также *cba* (колицин В), *gad* (глутамат декарбоксилаза), *cif* (эффектор секреции III типа), *iss* (устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови). Штаммы принадлежали к филогенетической группе В1 и сиквенс типу 21 (ST21). 13 штаммов (54,2%) были чувствительны к АМП, остальные 11 штаммов характеризовались устойчивостью к ампициллину в сочетании с тремя и более классами АМП. Шесть штаммов имели MDR-фенотип (multidrug resistant, три и более классов АМП), из них два — XDR-фенотип (extensively drug resistant) и продуцировали бета-лактамазу расширенного спектра молекулярного семейства CTX-M. Все штаммы сохраняли чувствительность к карбапенемам (меропенем).

ЕНЕС являются частой причиной заболеваний желудочно-кишечного тракта человека, вызывают диарею, геморрагический колит и, нередко, развитие осложнения, угрожающего жизни, — гемолитико-уремического синдрома (ГУС). В патогруппу ЕНЕС включены штаммы *E. coli*, продуцирующие STX, которые делятся на две группы, STX1 и STX2, кодируемые генами *stx1* и *stx2* соответственно. Продукция токсина STX2 является фактором риска развития тяжелой инфекции ЕНЕС. Известно, что жвачные животные, в частности КРС, являются основными резервуарами ЕНЕС, часто резистентных к АМП. Заболевания у человека возникают в результате употребления контаминированных штаммами ЕНЕС пищевых продуктов (мясные и молочные продукты), нередко при непосредственном контакте человека с животными. В некоторых вспышках факторами передачи ЕНЕС служили продукты растительного происхождения (пророщенные семена редиса, пажитника и др., салаты). ЕНЕС O157, O26, O111 и O103 не являются филогенетически родственными, но имеют одинаковый набор генов вирулентности, содержат большое количество мобильных генетических элементов (МГЭ), включая множество профагов и плазмиду вирулентности (pVF). Это указывает на то, что независимое приобретение МГЭ сопровождается активными эволюционными процессами штаммов ЕНЕС [11]. В последние годы серовар *E. coli* O26:H11 является вторым по распространенности ЕНЕС после *E. coli* O157:H7. Широкое международное распространение получили штаммы *E. coli* O26:H11 двух сиквенс-типов ST21 и ST29, которые обнаруживали в Японии, США, Австралии и многих европейских странах, где ведется надзор за ЕНЕС-инфекцией [11]. По данным отчетов Европейского агентства по без-

опасности пищевых продуктов (EFSA) и Центра по профилактике и контролю заболеваний (ECDC) *E. coli* O26:H11 часто выделяют из проб пищевых продуктов, в 2015 г. доля штаммов O26:H11 была почти равна O157:H7 [7]. Штаммы *E. coli* O26:H11 клональной линии ST21, продуцирующие STX1a, преобладали в клинических образцах, пробах пищевых продуктов и у КРС. В то же время во многих странах стали часто выделяться штаммы, содержащие ген *stx2a* [3, 8, 11].

Недавно в Европе в качестве причины ГУС был идентифицирован высоковирулентный *stx2a*-позитивный клон ST29 *E. coli* O26:H11 (так называемый «новый европейский клон»), что вызывает серьезную обеспокоенность во многих странах [2].

В настоящее время внимание сосредоточено на высоковирулентном *stx2*-позитивном клоне ST29. Тем не менее штаммы ST21, по сравнению с ST29, имеют больше дополнительных генов вирулентности, кодируемых плазмидой pVF (*ehxA*, энтерогемолитин; *katP*, каталаза-пероксидаза; *espP*, сериновая протеаза; *etpD*, эффектор системы типа II), и существует значительный риск дальнейшей эволюции ST21 в высоковирулентный клон [2].

Таким образом, использование молекулярных методов позволило выявить среди российских клинических изолятов *Salmonella enterica* и *Escherichia coli* штаммы, принадлежащие к успешным международным клонам высокого риска: *S. Kentucky* ST198, *S. Newport* AmpC-MDR/CMY-2 и *E. coli* O26:H11 ST21. Изученные нами штаммы относятся к возбудителям заболеваний общих для человека и животных, а пищевые продукты животного происхождения являются активными факторами передачи сальмонеллезов и эшерихиозов. Полногеномное секвенирование штаммов, использование стандартизованных методов анализа и международных баз данных, содержащих подробную информацию о генетической характеристике возбудителей, позволяют легко проводить детекцию международных клонов высокого риска, а также оценивать их эволюцию и географическое распространение вследствие международной торговли пищевыми продуктами, сельскохозяйственными животными и кормами, выявлять конкретные факторы передачи.

В рамках глобальной стратегии ВОЗ, направленной на уменьшение бремени заболеваний, передающихся с пищевыми продуктами, в каждой стране должны быть разработаны научно обоснованные меры профилактики, позволяющие ограничить «завоз» и распространение штаммов международных клонов высокого риска.

## Список литературы/References

1. Макарова М.А., Дмитриев А.В., Матвеева З.Н., Кафтырева Л.А. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Escherichia coli* серогруппы O26, вызывающих диарейные заболевания у детей // Медицинский академический журнал. 2018. Т. 18, № 3. С. 85–90. [Makarova M.A., Dmitriev A.V., Matveeva Z.N., Kaftyreva L.A. Molecular-genetic characteristics of strain *Escherichia coli* serogroup O26 causing diarrheal diseases in children. *Meditinskii akademicheskii zhurnal* = *Medical Academic Journal*, 2018, vol. 18, no. 3, pp. 85–90. doi: 10.17816/MAJ18385-90 (In Russ.)]

2. Bielaszewska M., Mellmann A., Bletz S., Zhang W., Köck R., Kossow A., Prager R., Fruth A., Orth-Höller D., Marejková M., Morabito S., Caprioli A., Piérard D., Smith G., Jenkins C., Curová K., Karch H. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11/H-: a new virulent clone emerges in Europe. *Clin. Infect. Dis.*, 2013, vol. 56, no. 10, pp. 1373–1381. doi: 10.1093/cid/cit055
3. Brooks J.T., Sowers E.G., Wells J.G., Greene K.D., Griffin P.M., Hoekstra R.M., Strockbine N.A. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983–2002. *J. Infect. Dis.*, 2005, vol. 192, no. 8, pp. 1422–1429. doi: 10.1086/466536
4. Crim S., Chai S., Karp B., Judd M., Reynolds J., Swanson K., Nisler A., McCullough A., Gould H. *Salmonella enterica* serotype Newport infections in the US, 2004–2013: increased incidence investigated through four surveillance systems. *Foodborne Pathog. Dis.*, 2018, vol. 15, no. 10, pp. 612–620. doi: 10.1089/fpd.2018.2450
5. Dallenne C., Da Costa A., Decré D., Favier C., Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2010, vol. 65, no. 3, pp. 490–495. doi: 10.1093/jac/dkp498
6. Egorova S., Timinouni M., Demartin M., Granier S.A., Whichard J.M., Sangal V., Fabre L., Delaune A., Pardos M., Millemann Y., Espie E., Achtman M., Grimont P.A.D., Weill F.-X. Ceftriaxone-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport, France. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008, vol. 14, no. 6, pp. 954–957. doi: 10.3201/eid1406.071168
7. European food safety authority and european centre for disease prevention and control the European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA J.*, 2016, vol. 14, no. 12: e04634. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4634
8. Gonzalez-Escalona N., Toro M., Rump L.V., Cao G., Nagaraja T.G., Meng J. Virulence gene profiles and clonal relationships of *Escherichia coli* O26:H11 isolates from feedlot cattle as determined by whole-genome sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2016, vol. 82, no. 13, pp. 3900–3912. doi: 10.1128/AEM.00498-16
9. Hawkey J., Le Hello S., Doublet B., Granier S.A., Hendriksen R.S., Fricke W.F., Ceysens P.J., Gomart C., Billman-Jacobe H., Holt K.E., Weill F.X. Global phylogenomics of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198. *Microb. Genomics*, 2019, vol. 5, no. 7: e000269. doi: 10.1099/mgen.0.000269
10. Nakaya H., Yasuhara A., Yoshimura K., Oshihoi Y., Izumiya H., Watanabe H. Life-threatening infantile diarrhea from fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica* Typhimurium with mutations in both *gyrA* and *parC*. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003, vol. 9, no. 2, pp. 255–257. doi: 10.3201/eid0902.020185
11. Ogura Y., Gotoh Y., Itoh T., Sato M.P., Seto K., Yoshino S., Isobe J., Etoh Y., Kurogi M., Kimata K., Maeda E., Piérard D., Kusumoto M., Akiba M., Tominaga K., Kirino Y., Kato Y., Shirahige K., Ooka T., Ishijima N., Lee K.I., Iyoda S., Mainil J.G., Hayashi T. Population structure of *Escherichia coli* O26:H11 with recent and repeated *stx2* acquisition in multiple lineages. *Microb. Genomics*, 2017, vol. 3, no. 11: e000141. doi: 10.1099/mgen.0.000141
12. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA J.*, 2019, vol. 17, no. 2: e05598. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5598
13. Tobias J., Vutukuru S.R. Simple and rapid multiplex PCR for identification of the main human diarrheagenic *Escherichia coli*. *Microbiol. Res.*, 2012, vol. 167, no. 9, pp. 564–570. doi: 10.1016/j.micres.2011.11.006
14. Varma J.K., Marcus R., Stenzel S.A., Hanna S.S., Gettner S., Anderson B.J., Hayes T., Shiferaw B., Crume T.L., Joyce K., Fullerton K.E., Voetsch A.C., Angulo F.J. Highly resistant *Salmonella* Newport-MDR AmpC transmitted through the domestic US food supply: a FoodNet case-control study of sporadic *Salmonella* Newport infections, 2002–2003. *J. Infect. Dis.*, 2006, vol. 194, no. 2, pp. 222–230. doi: 10.1086/505084

**Авторы:**

**Кафтырева Л.А.**, д.м.н., зав. лабораторией кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Егорова С.А.**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Макарова М.А.**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории идентификации патогенов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; ассистент кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Kaftyreva L.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Enteric Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Professor of the Department of Medical Microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

**Egorova S.A.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Enteric Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

**Makarova M.A.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Pathogen Identification, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Assistant Professor of the Department of Medical Microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation.

# ВЫЯВЛЕНИЕ СЛУЧАЕВ КОРИ В ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ В 2017–2018 гг.

И.Н. Лаврентьева<sup>1</sup>, М.А. Бичурина<sup>1</sup>, А.Ю. Антипова<sup>1</sup>, Ж. Камара<sup>2</sup>,  
Н'Ф. Магассуба<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Университет имени Гамаль Абдель Насера, г. Конакри, Гвинейская Республика

**Резюме.** В 2017 г. ВОЗ сообщила о 596 подтвержденных случаях кори в ГР в связи с эпидемической вспышкой 2016–2017 гг. Вспышка была купирована после проведения дополнительной иммунизации (ДИ) против кори в двух провинциях страны. Повышение эффективности ДИ связано с выявлением эпидемически значимых групп населения. Цель исследования — анализ случаев кори в 2017–2018 гг. и оценка популяционного иммунитета к вирусу кори в Гвинейской Республике (ГР). *Материалы и методы.* Всего исследовано 810 образцов сыворотки крови больных с макуло-папулезной сыпью и клиническим диагнозом «корь?» на IgM- и IgG-антитела к вирусу кори. На IgG-антитела к вирусу кори исследовали 445 сывороток крови условно здоровых лиц в возрасте от 7 месяцев до 67 лет. Иммуноглобулины классов М и G выявляли в ИФА с тест-системами «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)» (Euroimmun, Германия) и «Anti-Measles Virus ELISA (IgG)» (Euroimmun, Германия). *Результаты и обсуждение.* В 2017–2018 гг. эпидемический процесс кори в Гвинейской Республике протекал весьма интенсивно, с существенным преобладанием детей в возрастной структуре заболевших. В 2018 г. более половины заболевших (61,6%) — это дети от 1 до 5 лет; вторая по значимости возрастная группа — дети до года (18,6%), что, видимо, связано с нарушениями плановой вакцинации, которой в ГР подлежат дети 9 месяцев. Установлено, что 16,4% заболевших (60 из 366) имели документированные сведения о вакцинации против кори. Возможно, выявление высокой доли заболевших привитых связано с недостаточным иммунным ответом на однократную иммунизацию детей в возрасте 9 месяцев. Возможно также снижение прививочных свойств вакцинных препаратов из-за нарушения «холодовой цепи» в процессе транспортировки вакцин в условиях тропического климата. Общее количество серонегативных к вирусу кори лиц из 445 обследованных составило 8,3%. Однако абсолютное большинство из них — это дети и молодые люди в возрасте от 7 мес. до 22 лет, где было выявлено 52,4% серонегативных лиц. Таким образом, получены результаты, которые свидетельствуют о сохранении интенсивной циркуляции вируса в популяции и необходимости совершенствования эпидемиологического надзора, повышения охвата плановой вакцинацией и проведения кампаний ДИ против кори в ГР.

**Ключевые слова:** корь, программа элиминации кори, Африка, вакцинация, ревакцинация.

## DETECTION OF MEASLES CASES IN THE REPUBLIC OF GUINEA IN 2017–2018

Lavrentieva I.N.<sup>a</sup>, Bichurina M.A.<sup>a</sup>, Antipova A.Yu.<sup>a</sup>, Camara J.<sup>b</sup>, Magassouba N'F.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> University Gamal Abdel Nasser, Conakry, Republic of Guinea

**Abstract.** In 2017, WHO reported 596 confirmed measles cases in Guinea Republic connected to the 2016–2017 epidemic outbreak that was stopped after additional immunization (SIA) against measles in two provinces of the country. Improving the effectiveness of SIA is associated with the identification of epidemiologically significant groups

### Адрес для переписки:

Лаврентьева Ирина Николаевна  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.  
Тел.: 8 (812) 232-94-11 (служебн.).  
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).  
E-mail: pasteur.lawr@mail.ru

### Библиографическое описание:

Лаврентьева И.Н., Бичурина М.А., Антипова А.Ю., Камара Ж.,  
Магассуба Н'Ф. Выявление случаев кори в Гвинейской Республике  
в 2017–2018 гг. // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 570–574.  
doi: 10.15789/2220-7619-DOM-1333

### Citation:

Lavrentieva I.N., Bichurina M.A., Antipova A.Yu., Camara J., Magassouba N'F.  
Detection of measles cases in the Republic of Guinea in 2017–2018 //  
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020,  
vol. 10, no. 3, pp. 570–574. doi: 10.15789/2220-7619-DOM-1333

of the population. The aim of the study was to analyze 2017–2018 measles cases and assess population immunity to measles virus in the Republic of Guinea. *Materials and methods.* A total of 810 blood serum samples collected from patients with maculo-papular rash and clinical diagnosis “measles?” were tested for measles virus-specific IgM-and IgG antibody level. 445 sera of conditionally healthy individuals aged 7 months to 67 years were examined for anti-measles virus IgG antibody level. Immunoglobulins of classes M and G were detected by ELISA with test systems «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)» (Euroimmun, Germany) and «Anti-Measles Virus ELISA (IgG)» (Euroimmun, Germany). *Results and discussion.* In 2017–2018, the epidemic process of the measles in the Republic of Guinea proceeded very intensively, being markedly prevalent in children among age groups. In 2018, more than half of the cases (61.6%) were identified in children aged 1 to 5 years old; the second most abundant age group was children under one year (18.6%), probably due to violated measles vaccination, which in GR are subject to children of nine months of age. It was found that 16.4% of patients (60 out of 366) had documented data on measles vaccination. Potentially, high proportion of measles cases among pre-vaccinated subjects was due to insufficient immune response to a single immunization in children of 9 months of age. Moreover, lowered vaccine-related properties might also be violated “cold chain” during vaccine transportation occurring in tropical climate. Analyzing 445 subjects revealed that total number of measles virus seronegative subjects was 8.3%. However, the vast majority of them were children and young adults aged 7 months to 22 years, where 52.4% of seronegative subjects were identified. Thus, the data obtained indicate that intensive measles virus circulation in human population was continued that necessitate interventions for improving epidemiological surveillance, extend routine measles vaccination coverage and conduct SIAs against measles in GR.

**Key words:** measles, measles elimination program, Africa, vaccination, revaccination.

Несмотря на реализацию программы элиминации кори в разных регионах ВОЗ, в мире по-прежнему возникают эпидемические вспышки этого заболевания [2, 5, 8, 10, 12, 13, 14]. В Гвинейской Республике, по данным ВОЗ, начиная с 2014–2015 гг. отмечен рост заболеваемости корью, который продолжался и в последующие годы. Подъем заболеваемости связан со снижением охвата плановой вакцинацией с 90,5% в 2012 г. до 52% в 2015 г. [3, 4, 7]. Программа вакцинопрофилактики кори была нарушена вследствие развития гуманитарного кризиса в странах, вовлеченных в эпидемию лихорадки Эбола [9, 11]. Наиболее пострадавшими стали государства Западной Африки — Либерия, Сьерра-Леоне и Республика Гвинея (ГР).

В 2016 г. в период с 27 по 52 неделю число подозрительных на корь случаев в Республике Гвинея составило 1304, количество лабораторно обследованных больных — 382 человека, из них у 189 (50,9%) были выявлены IgM антитела к вирусу кори. В 2017 г. ВОЗ сообщила о 596 подтвержденных случаях кори в ГР в связи с эпидемической вспышкой, которая началась в конце 2016 г. и распространилась в первой половине 2017 г. [1, 6]. Вспышка была купирована только после проведения дополнительной иммунизации против кори населения префектуры Нзереборе и столицы государства, г. Конакри. Повышение эффективности таких мероприятий связано с выявлением эпидемически значимых групп населения.

Цель настоящего исследования — анализ случаев кори в 2017–2018 гг. и оценка популяционного иммунитета к вирусу кори в Гвинейской Республике.

Исследование выполнялось в марте-апреле 2017 г. во время эпидемической вспышки кори и в период с января по июнь 2018 г.

## Материалы и методы

В 2017 г. исследованы 82 сыворотки крови больных с макуло-папулезной сыпью и клиническим диагнозом «корь?» на IgM антитела к вирусу кори и 445 сывороток крови условно здоровых лиц в возрасте от 7 месяцев до 67 лет на IgG-антитела к вирусу кори.

В 2018 г. на IgM и IgG-антитела к вирусу кори были исследованы 728 сывороток крови жителей ГР, перенесших острую инфекцию с макуло-папулезной сыпью и лихорадкой. Всем этим больным был поставлен клинический диагноз «корь» или «корь?».

Иммуноглобулины классов M и G к вирусу кори выявляли в ИФА с тест-системами «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)» (Euroimmun, Германия) и «Anti-Measles Virus ELISA (IgG)» (Euroimmun, Германия). Наличие в сыворотке крови IgM-антител к вирусу кори оценивали как острую коревую инфекцию.

Статистический анализ выполняли с помощью пакета программ Statistica 6.0.

## Результаты и обсуждение

В марте-апреле 2017 г. в период вспышки из 82 лабораторно обследованных пациентов с клиническим диагнозом «корь», у 70 больных (85,3%) диагноз был подтвержден лабораторно. Существенных гендерных различий не выявлено: среди заболевших 33 мужчины и 37 женщин.

Анализ распределения кори по возрастным группам (табл. 1) показал, что инфекция распространялась, в основном, среди детей, в первую очередь, в возрасте от 1 года до 5 лет: специфические IgM-антитела выявлены у 45,7% от общего числа заболевших или у 96,9% от числа обследованных этой возрастной группы. Второй

**Таблица 1. Распределение заболевших корью по возрастным группам (2017 г.)**

Table 1. Distribution of measles cases by age groups (2017)

Возраст (лет) Age (years)	Обследовано на IgM-корь Tested for IgM measles		
	Всего человек Total person	Из них IgM «+» Of them IgM «+»	
		абс./% abs./%	Доля от общего числа заболевших, % Share of the total number of cases, %
До 1 года Less than 1	24	19/79,2	27,2
От 1 до 5 From 1 to 5	33	32/96,9	45,7
От 5 до 14 From 5 to 14	19	13/68,4	18,5
Старше 18 18 and more	6	6	8,6
<b>Всего</b> Total	82	70/85,3	100

по значимости оказалась группа детей в возрасте до года: у 27,2% от общего числа заболевших выявлены IgM-антитела к вирусу кори; при этом диагноз подтвердился у 79,2% обследованных данной возрастной группы. Среди детей старше 5 и до 14 лет корь была лабораторно подтверждена в 68,4% случаев, а их доля в общей структуре заболевших составила 18,5%. Единичные случаи кори были выявлены нами у лиц 18 лет и старше: у молодого человека 18 лет и у пятерых лиц в возрасте 22–23 года.

**Таблица 2. Определение доли серонегативных к кори жителей Гвинейской Республики разного возраста (2017 г.)**

Table 2. Determination of the proportion of seronegative to measles residents of the Republic of Guinea of various ages (2017)

Возраст Age	Обследовано на IgG-корь Tested for IgG measles		
	Всего человек Total person	Из них IgG «-» Of them IgG «-»	
		абс. abs.	M±m%
7 мес. — 22 года 7 month — 22 years	42	22	52,4±7,71
23–39 лет 23–39 years	208	10	4,8±1,48
40 лет и старше 40 years and more	195	5	2,6±1,14
<b>Итого</b> Total	445	37	8,3±1,31

Самая высокая доля заболевших выявлена среди детей 1–5 лет, то есть в той возрастной группе, которая должна быть наиболее защищена от инфекции, так как вакцинации против кори в ГР подлежат дети 9 месяцев. Возникает вопрос о напряженности коллективного иммунитета к кори, в первую очередь среди детей младшего возраста.

В связи с этим в период эпидемии 2017 г. на IgG-антитела были исследованы сыворотки крови условно здоровых лиц в возрасте от 7 месяцев до 67 лет для выявления доли серонегативных в разных возрастных группах. Следует отметить, что взятие крови для лабораторного исследования у клинически здоровых детей и подростков оказалось весьма затруднено, нам не удалось получить образцы сывороток крови у лиц до 22 лет в количестве, достаточном для распределения их на отдельные возрастные группы. Эти образцы были объединены в одну группу 7 мес. — 22 года. При этом 21 образец — это сыворотки крови детей в возрасте от 1 года до 5 лет. Результаты исследования на IgG-антитела к вирусу кори 445 сывороток крови, полученных от лиц разных возрастов, представлены в таблице 2.

Оказалось, что общее количество серонегативных к вирусу кори лиц из числа обследованных составило всего 37 человек, или 8,3%. Однако абсолютное большинство из них — это дети и молодые люди в возрасте от 7 мес. до 22 лет, где было выявлено 52,4% серонегативных от общего числа обследованных лиц этой группы. Эти результаты подтверждают и преимущественным выявлением больных корью во время эпидемии 2017 г. именно среди детей до 14 лет (табл. 1).

Высокая доля восприимчивых к кори лиц, выявленная нами в 2017 г. среди детей и подростков могла способствовать поддержанию эпидемического процесса кори в ГР.

Проведенные в 2018 г. исследования подтвердили это предположение. На наличие IgM-антител к вирусу кори ретроспективно были тестированы 728 сывороток крови жителей ГР, поступившие в национальную лабораторию по надзору за корью в ГР в период с января по июнь 2018 г. Образцы были получены от больных, перенесших острую инфекцию с общинфекционным синдромом, макуло-папулезной сыпью и лихорадкой.

В целом было выявлено 366 (47,2%) IgM-корь положительных образцов. Абсолютное большинство заболевших, а именно 344 человека — дети до 14 лет; в возрастной группе 15–29 лет выявлено 17 больных корью; 7 заболевших — лица старше 30 лет.

В таблице 3 представлено распределение по возрастным группам переболевших корью детей в возрасте до 14 лет, так как именно эта группа составила основную когорту заболевших. Более половины из них (61,6%) — это дети от 1 до 5 лет; дети в возрасте до года составили

18,6% от общего числа заболевших. Среди детей от 5 до 9 лет выявлено 15,4% больных корью; заболевшие корью подростки 10–14 лет составили 4,4% в общей структуре.

Таким образом, как в 2017 г., так и в 2018 г. самая высокая доля заболевших корью выявлена нами среди детей в возрасте от года до пяти лет, а вторая по значимости возрастная группа — это дети до года.

Распространение кори в 2018 г. по территориальному признаку представлено в таблице 4. Наибольшее количество образцов поступило из г. Конакри и префектуры Канкан 130 и 172 соответственно, наименьшее — из префектуры Киндия — 53 сыворотки крови. Если оценивать долю IgM «+» от количества поступивших с территории образцов, наибольшее распространение корь получила в префектурах Канкан, Боке и Маму. Наименьшая доля больных выявлена в г. Конакри и провинции Нзерокоре, что, видимо, связано со вспышкой кори в конце 2016 — начале 2017 гг. в этих провинциях и с кампанией дополнительной иммунизации (ДИ) против кори, проведенной на этих территориях в 2017 г.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в 2018 г. эпидемический процесс кори в ГР продолжал протекать весьма интенсивно, с существенным преобладанием детей в возрастной структуре заболевших. Более половины из них (61,6 %) — это дети от 1 до 5 лет; вторая по значимости возрастная группа — дети до года (18,6 %). Видимо, активное вовлечение в эпидемический процесс кори детей младших возрастных групп связано с нарушениями плановой вакцинации, которой, согласно Национальному календарю прививок, подлежат дети 9 месяцев.

Особую тревогу вызывает тот факт, что 16,4% заболевших (60 из 366 человек) имели документированные сведения о проведенной плановой вакцинации против кори. Возможно, выявление высокой доли заболевших привитых связано с недостаточным иммунным ответом на однократную иммунизацию детей в возрасте 9 месяцев. Нельзя также исключить снижения прививочных свойств вакцин из-за нарушения «холодовой цепи» в процессе транспортировки иммунобиологических препаратов в условиях тропического климата.

Следует отметить, что случаи кори у привитых против этой инфекции регистрируются и в других странах [1, 3].

В целом полученные результаты корреспондируются с официальными данными ВОЗ: сообщалось о 517 подтвержденных случаях кори в ГР в 2018 г. [10]. Эти данные свидетельствуют о сохранении интенсивной циркуляции вируса в популяции и необходимости совершенствования эпидемиологического надзора, повышения охвата плановой вакцинацией и проведения дополнительных кампаний специфической профилактики коревой инфекции в ГР.

**Таблица 3. Возрастная структура заболевших корью детей Гвинейской Республики (2018 г.)**

Table 3. Age structure of children with measles in the Republic of Guinea (2018)

Возраст (лет) Age (years)	Исследовано образцов Samples examined	Из них IgM-корь «+» Of them IgM-measles «+»		
		абс. abs.	M±m%	Доля от общего числа заболевших (%) Share of the total number of cases (%)
До года until the 1	117	64	54,7±4,60	18,6
от 1 до 5 from 1 to 5	392	212	54,1±2,52	61,6
от 5 до 9 from 5 to 9	139	53	38,1±4,12	15,4
от 10 до 14 from 10 to 14	40	15	37,5±7,66	4,4
Всего Total	688	344	50±1,91	100

**Таблица 4. Распределение больных корью по территориям Гвинейской Республики (2018 г.)**

Table 4. Distribution of measles patients in the Republic of Guinea (2018)

Префектура Prefecture	Обследовано на IgM-корь Tested for IgM measles			
	Всего человек Total person	Из них IgM «+» Of them IgM «+»		
		абс. abs.	M±m%	Доля от общего числа (%) The proportion of the total number (%)
Конакри Conakry	130	43	33,1±4,13	11,7
Киндия Kindia	53	17	32,1±6,41	4,7
Нзерекоре Nzerekore	66	36	54,5±6,13	9,8
Боке Bokeh	85	51	60±5,31	13,9
Лабэ Labe	62	30	48,4±6,35	8,2
Маму Mamu	89	48	53,9±5,28	13,1
Канкан Kankan	172	104	60,5±3,73	28,4
Фарана Farana	71	37	52,1±5,93	10,2
Итого Total	728	366	50,3±1,85	100,0

## Список литературы/References

1. Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Канаева О.И. Ситуация по кори на территориях Северо-Западного федерального округа и трудности диагностики при спорадическом уровне заболеваемости: аналитический обзор. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2017. 76 с. [Bichurina M.A., Lavrentieva I.N., Zheleznova N.V., Antipova A.Yu., Kanaeva O.I. The situation of measles in the North-Western Federal district and the difficulties of diagnosis with sporadic morbidity: an analytical review]. *St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2017. 76 p. (In Russ.)*
2. Камаара Дж., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Зарубаев В.В., Магассуба Н'Ф., Лаврентьева И.Н. Осуществление программы элиминации кори в Африканском регионе ВОЗ // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 3–4. С. 449–456. [Camara J., Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Zarubaev V.V., Magassouba N., Lavrentieva I.N. Implementation of the program of measles elimination in the who African Region. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2019, vol. 9, no. 3–4, pp. 449–456. doi: 10.15789/22207619201934449456 (In Russ.)*]
3. Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербакова С.А., Буаро М.Й., Тотолян А.А. Изучение уровня иммунитета к вирусу кори в отдельных группах населения Гвинейской Республики в рамках Глобальной программы элиминации кори. Сообщение 1 // 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.)*]
4. Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербакова С.А., Буаро М.Й., Тотолян А.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. [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 2. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 79–84. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-79-84 (In Russ.)*]
5. Dabbagh A., Laws R.L., Steulet C., Dumolard L., Gacic-Dobo M., Mulders M.N., Kretsinger K., Alexander J.P., Rotac P.A., Goodson J.L. Progress towards regional measles elimination — worldwide, 2000–2017. *Wkly Epidemiol. Rec., 2018, vol. 93, no. 48, pp. 649–660.*
6. Faneye A.O., Adeniji J.A., Olusola B.A., Motayo B.O., Akintunde G.B. Measles virus infection among vaccinated and unvaccinated children in Nigeria. *Viral Immunol., 2015, vol. 28, no. 6, pp. 304–308.*
7. Masresha B.G., Dixon M.G., Kriss J.L., Katsande R., Shibeshi M.E., Luce R., Fall A., Dosseh A.R.G.A., Byabamazima Ch.R., Dabbagh A.J., Goodson J.L., Mihigo R. Progress toward measles elimination — African Region, 2013–2016. *MMWR, 2017, vol. 66, no. 17, pp. 436–443. doi: 10.15585/mmwr.mm6617a2*
8. Orenstein W.A., Cairns L., Hinman A., Nkowane B., Olivé J.M., Reingold A.L. Measles and rubella global strategic plan 2012–2020 midterm review report: background and summary. *Vaccine, 2018, vol. 36, suppl. 1, pp. A35–A42. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.10.065*
9. Takahashi S., Metcalf J.E., Ferrari M.J., Moss W.J., Truelove Sh.A., Tatem A.J., Grenfell B.T., Lessler J. Reduced vaccination and the risk of measles and other childhood infections post-Ebola. *Science, 2015, vol. 347, no. 6227, pp. 1240–1242.*
10. WHO. Global measles and rubella strategic plan: 2012–2020. *Geneva, Switzerland: World Health Organ. 2012.*
11. WHO. Measles elimination by 2020 — a strategy for the African Region // Geneva, Switzerland: World Health Organization, Regional Office for Africa. 2011.
12. WHO. Measles Rubella Midterm Review Report. *World Health Organization, 2016.*
13. WHO. Reported measles cases and incidence rates by WHO Member States, as of 10 Oct 2019.
14. WHO. Reported measles cases and incidence rates by WHO Member States 2016, 2017 as of 11 April 2017.

**Авторы:**

**Лаврентьева И.Н.**, д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;  
**Бичурина М.А.**, д.м.н., зав. вирусологической лабораторией центра по элиминации кори и краснухи ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;  
**Антипова А.Ю.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;  
**Камаара Ж.**, научный сотрудник лаборатории геморрагических лихорадок Университета Гамалы Абдель Насера, Конакри, Гвинейская Республика;  
**Магассуба Н'Ф.**, к.б.н., зав. лабораторией геморрагических лихорадок Университета Гамалы Абдель Насера, Конакри, Гвинейская Республика.

**Authors:**

**Lavrentieva I.N.**, PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;  
**Bichurina M.A.**, PhD, MD (Medicine), Head of the Virological Laboratory of Measles and Rubella Elimination, 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;  
**Camara J.**, Researcher, Laboratory of Hemorrhagic Fevers, Gamal Abdel Nasser University, Conakry, Republic of Guinea;  
**Magassouba N'F.**, PhD (Biology), Head of the Laboratory of Hemorrhagic Fevers, Gamal Abdel Nasser University, Conakry, Republic of Guinea.

# ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ КИШЕЧНОГО АМЕБИАЗА В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Л.П. Черенова<sup>1</sup>, Р.С. Аракельян<sup>1</sup>, Т.М. Михайловская<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Астрахань, Россия

<sup>2</sup> ГБУЗ АО Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничоги, г. Астрахань, Россия

**Резюме.** Острые кишечные инфекции, в том числе амелиаз кишечника, являются актуальной проблемой практического здравоохранения. Амелиаз остается важной и не до конца решенной проблемой в здравоохранении. В Астраханской области кишечный амелиаз регистрируется постоянно. Нами проведен анализ клинической картины острого кишечного амелиаза у 150 взрослых больных, находившихся на лечении в ГБУЗ АО «Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничоги» с 2010 по 2016 гг. Среди заболевших преобладали лица женского пола (60,7%). Возраст больных колебался от 18 до 79 лет. Большинство больных (72,0%) были людьми молодого и среднего возраста (до 50 лет). Более 50% больных поступили в стационар в первые три дня болезни. Однако в 35 случаях (23,3%) осуществлялась поздняя госпитализация (позже 5 дня болезни). Правильный диагноз был поставлен 44 больным (29,3%). Наиболее частыми предварительными диагнозами были острый гастроэнтерит и острая дизентерия. Все случаи кишечного амелиаза подтверждены обнаружением в фекалиях больных вегетативной тканевой формы *Entamoeba histolytica*. Заболевание носило спорадический характер. Большинство случаев (78,0%) зарегистрировано в летне-осенний период. У 142 больных (94,7%) заболевание протекало в среднетяжелой форме. Нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы были отмечены преимущественно у больных с тяжелой формой амелиаза и у больных с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями. Для подтверждения диагноза использовался копрологический метод. Микроскопическое исследование фекалий осуществлялось сразу после акта дефекации (теплый вид). Лечение больных кишечным амелиазом носило комплексный характер. Большое внимание уделялось питанию больных: диета щадящая, высокобелковая, стол протертый. У больных с язвенным колитом стол был индивидуальным (ограничение углеводов, исключение молока, клетчатки). Этиотропная терапия проводилась препаратами 5-нитроимидазола: метронидазол (трихопол, флагин, тиберал), макмирор, тинидазол (фазижин) в сочетании с тетрациклином. В лечение включали комплекс витаминов группы В, метилурацил (в свечах), ферменты (креон, мезим, панкреатин), энтеросорбенты (сметта, полифепан, энтеросгель), спазмолитики (но-шпа, дротаверин). Больным назначали лечебные микроклизмы с раствором фурациллина, с маслом шиповника, облепиховым маслом. Инфузионная терапия полиионными растворами проводилась под контролем электролитов крови. При снижении количества белка и альбумина в крови переливалась СЗП и альбумин. Больным с тяжелой формой амелиаза кишечника по показаниям переливалась эритроцитарная масса, вводились гемостатические препараты: дицинон, криопреципитат, препараты кальция. Проводилось лечение анемии. Исход заболевания у всех больных благоприятный. Летальных исходов зафиксировано не было. Осложнение в виде кишечного кровотечения наблюдалось у 6 больных (4,0%), у которых амелиаз протекал на фоне неспецифического язвенного колита. Таким образом, острый кишечный амелиаз на современном этапе имеет типичную клиническую картину, но протекает с менее выраженными симптомами. Осложнение в виде кишечного кровотечения наблюдалось у больных с кишечным амелиазом в сочетании с неспецифическим язвенным колитом в 3,9% случаев.

**Ключевые слова:** острый кишечный амелиаз, шигеллез, толстый кишечник, гастроэнтерит, колит, вода, фекалии.

## Адрес для переписки:

Аракельян Рудольф Сергеевич  
414000, Россия, г. Астрахань, Бакинская ул., 121,  
Астраханский государственный медицинский университет.  
Тел.: 8 927 281-27-86.  
E-mail: rudolf\_astakhan@rambler.ru

## Contacts:

Rudolf S. Arakelyan  
414000, Russian Federation, Astrakhan, Bakinskaya str., 121,  
Astrakhan State Medical University.  
Phone: +7 927 281-27-86.  
E-mail: rudolf\_astakhan@rambler.ru

## Библиографическое описание:

Черенова Л.П., Аракельян Р.С., Михайловская Т.М. Особенности течения кишечного амелиаза в современных условиях // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 575–580. doi: 10.15789/2220-7619-FOT-904

## Citation:

Cherenova L.P., Arakelyan R.S., Mikhailovskaya T.M. Features of the course of contemporary intestinal amebiasis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 575–580. doi: 10.15789/2220-7619-FOT-904

## FEATURES OF THE COURSE OF CONTEMPORARY INTESTINAL AMEBIASIS

Cherenova L.P.<sup>a</sup>, Arakelyan R.S.<sup>a</sup>, Mikhailovskaya T.M.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation

<sup>b</sup> Regional infectious clinical hospital named after A.M. Nichoga, Astrakhan, Russian Federation

**Abstract.** Acute intestinal infections, including intestinal amebiasis, remain a pressing public health problem. Amebiasis still represents an important and partially solved problem to health care. In the Astrakhan region, intestinal amebiasis is being continuously recorded. We analyzed the clinical picture of acute intestinal amebiasis in 150 adult patients dominated by female patients comprising 60.7%, aged 18 to 79 years old, and treated within 2010–2016 at the Regional Infectious Clinical Hospital. All patients were mostly of young and middle age (up to 50 years) — 108 patients. More than 50% of patients were admitted to the hospital within the first three days of the disease. However, in 35 cases (23.3%), late hospitalization was carried out (5 days after the onset). Proper diagnosis was made to 44 patients (29.3%), most commonly diagnosing preliminarily with acute gastroenteritis and acute dysentery. All cases of intestinal amebiasis were confirmed by detecting in the feces of patients with a vegetative form of *Entamoeba histolytica*. The disease was featured with sporadic course, being mostly recorded during the summer-autumn period (78.0%). In 142 patients (94.7%), the moderate severity was observed. Cardiovascular disorders were mainly found in severe amebiasis as well as patients comorbid with cardiovascular diseases. A coprological method was used to confirm the diagnosis. Microscopic examination of feces was carried out immediately after defecation (warm type). A combination therapy was applied to patients with intestinal amebiasis. A great attention was paid to patient nutrition: high-protein sparing diet, grated food. Patients with ulcerative colitis received individualized diet (restricted carbohydrates, exclusion of milk and fiber). Etiotropic therapy was carried out with using 5-nitroimidazole preparations: metronidazole (Trichopol, Flagin, Tiberol), MacGioror, Tinidazole (Phasycin) combined with tetracycline. The treatment included group B vitamin cocktail, methyluracil (suppository), enzymes (creon, mezim, pancreatin), enterosorbents (smecta, polyphapan, enterosgel), antispasmodics (no-spa, drotaverin). Patients were administered with therapeutic microenemas containing furacilin solution, rosehip oil, and sea buckthorn oil. Infusion therapy consisting of polyionic solutions was applied by assessing blood electrolyte level. Fresh frozen plasma and albumin were transfused upon decline of serum protein and albumin level. Packed erythrocytes Erythrocyte mass and hemostatic drugs were injected in case of severe intestinal amebiasis if indicated: dicynone, cryoprecipitate, and calcium preparations. Finally, anemia cases were treated as well. In all cases, the disease outcome was favorable, without any mortality. Complications were noted in the form of intestinal bleeding observed in 6 patients (4.0%), wherein amebiasis proceeded together with ulcerative colitis. Acute intestinal amebiasis is currently featured with typical clinical picture that proceeds with less severe symptoms. Intestinal bleeding was observed in patients with intestinal amoebiasis in combination with ulcerative colitis. Chronization of intestinal amebiasis occurs in single cases (3.9%).

**Key words:** chronic intestinal amebiasis, shigellosis, large intestine, gastroenteritis, colitis, water, feces.

## Введение

По данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в настоящее время эпидемиологически неблагоприятным по острым кишечным инфекциям (ОКИ) признан 51 регион России. С начала 2010 г. число вспышек острых кишечных инфекций в регионах РФ возросло более чем в 3 раза, число пострадавших от этих заболеваний составило более 3 тыс. человек [3].

Острые кишечные инфекции, в том числе амебиаз кишечника, остаются актуальной проблемой здравоохранения. В современных условиях в группе ОКИ ведущее место в России продолжают занимать патогенные и инвазивные инфекции. Амебиаз остается важной и не до конца решенной проблемой в здравоохранении. Многочисленные клинко-эпидемиологические исследования амебиаза кишечника, проведенные за последние годы, привлекают

к себе внимание эпидемиологов и инфекционистов. Проблема кишечного амебиаза является актуальной и в настоящее время, особенно в регионах с жарким климатом.

Ежегодно заболеваемость кишечным амебиазом в мире составляет около 50 млн человек. По данным ВОЗ, летальность достигает 100 тыс. случаев в год, то есть 0,2% от выявленных больных, что ставит его по уровню смертности среди паразитарных заболеваний на второе место после малярии [2].

Клиническая картина амебиаза может быть полиморфна, и заболевание представляет определенные трудности в диагностике, в связи с тем, что в клинической практике нередко встречаются случаи сочетания амебиаза с другими ОКИ и другими инфекционными болезнями [3].

Цель исследования: выявить особенности течения кишечного амебиаза у жителей Астраханского региона на современном этапе.

## Материалы и методы

В Астраханской области кишечный амебиаз регистрируется постоянно. Ежегодно в Областной инфекционной клинической больнице им. А.М. Ничоги г. Астрахани находилось на лечении от 23 до 43 больных кишечным амебиазом.

Всего за 2010–2016 гг. в Астраханском регионе зарегистрировано 230 случаев кишечного амебиаза, из них 205 случаев у взрослых больных (89,1%) и 25 — у детей (10,9%). Из 205 больных у 150 больных (73,2%) диагностирован острый кишечный амебиаз, у 8 больных (3,9%) — хронический кишечный амебиаз. У 47 больных (22,9%) была установлена смешанная инфекция: амебиаз и шигеллез — 35 случаев (17,1%), амебиаз и сальмонеллез — 12 случаев (5,8%).

Нами проведен анализ клинической картины острого кишечного амебиаза у 150 взрослых больных, находившихся на лечении в ОИКБ с 2010 по 2016 гг.

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы Microsoft Office Excel (Microsoft, США) и BioStat Professional 5.8.4. Определяли среднюю арифметическую (M), стандартную ошибку средней арифметической (m) — формат (M±m), процентное выражение ряда данных (%).

## Результаты и обсуждение

Среди заболевших преобладали лица женского пола — 60,7% (91 больная). Мужчин было 39,3% (59 больных).

Возраст больных колебался от 18 лет до 79 лет. Большинство больных были преимущественно молодого и среднего возраста (до 50 лет) — 108 больных (72%); 42 больных были в возрасте старше 50 лет, из них старше 60 лет — 14 больных (9,3%). Городские жители составили 64,0%, сельские — 36,0%.

Более 50% больных с кишечным амебиазом поступили в стационар в первые три дня болезни. Однако в 35 случаях (23,3%) осуществлялась поздняя госпитализация (позже 5 дня болезни).

Больные направлялись в стационар с различными диагнозами (табл. 1).

Правильный диагноз был поставлен 44 больным (29,3%). Наиболее часто предварительными диагнозами были острый гастроэнтерит и острая дизентерия. В отделении диагноз был установлен в первые 3 дня 128 больным (85,3%). 22 больным (14,7%) диагноз выставлен на 4–5 день при повторном исследовании кала на простейшие и получении положительного результата.

Все случаи кишечного амебиаза подтверждены обнаружением в фекалиях больных вегетативной тканевой формы *Entamoeba histolytica*.

Заболевание носило спорадический характер. Большинство случаев (78,0%) зарегистри-

**Таблица 1. Направительные диагнозы**

Table 1. Guide diagnoses

Диагнозы Diagnoses	Количество больных Number of patients n = 150	%, M±m
<b>Острый гастроэнтерит</b> Acute gastroenteritis	59	39,3±4,0
<b>Острая дизентерия</b> Acute dysentery	37	24,7±3,5
<b>Амебиаз кишечника</b> Intestinal amebiasis	32	21,3±3,3
<b>Протозойный колит</b> Protozoal colitis	12	8,0±2,2
<b>Кишечная инфекция неуточненная</b> Intestinal infection, unspecified	7	4,7±1,7
<b>Пищевая токсикоинфекция</b> Foodborne infection	3	2,0±1,1

ровано в летне-осенний период. Эпидемиологические данные при амебиазе кишечника установить трудно. Однако наблюдается преимущественно водный путь инфицирования. При опросе больных выявлено, что большинство заболевших пили некипяченую воду, купались в реке и в бассейне, где случайно заглатывали воду. Часть больных употребляли немытые овощи и фрукты, не соблюдали правила личной гигиены. 9 больных прибыли в Астрахань из эндемичных по амебиазу регионов (Узбекистан, Туркменистан, Турция).

У 142 больных (94,7%) заболевание протекало в среднетяжелой форме. У 8 больных (5,3%) была зарегистрирована тяжелая форма кишечного амебиаза, осложнившаяся кишечным кровотечением у 6 больных. Острое начало болезни было отмечено у 117 больных (78%), постепенное — у 33 больных (22%). Клинические симптомы кишечного амебиаза представлены в таблице 2.

У всех больных отмечалась слабость, снижение работоспособности. Умеренная головная боль периодически возникала у 78 пациентов (52,0%). Тошнота была у 117 больных (78,0%), рвота — у 76 больных (50,7%). У большинства больных наблюдалась 1–3-кратная, у 11 (7,3%) — многократная рвота.

У 98 больных (65,3%) кишечным амебиазом зафиксирована субфебрильная лихорадка (до 38°C), у 34 больных (22,7%) — от 38,2 до 39,4°C. У 18 больных (12,0%) температура тела оставалась нормальной. Средняя продолжительность лихорадки составляла 4,7 дней.

С первых дней болезни у больных появлялся жидкий стул, который вначале носил разжиженный каловый характер. По мере развития болезни стул учащался, становился жидким,

**Таблица 2. Клинические симптомы кишечного амебиоза**

Table 2. Clinical symptoms of intestinal amebiasis

Симптомы Symptoms	Количество больных Number of patients n = 150	%, M±m
<b>Слабость</b> Weakness	150	100
<b>Умеренная головная боль</b> Mild headache	78	52,0±4,1
<b>Снижение аппетита</b> Reduced appetite	102	62,0±4,0
<b>Лихорадка</b> Fever	131	87,3±2,7
<b>Тошнота</b> Nausea	117	78,0±3,4
<b>Рвота</b> Vomiting	76	50,7±4,1
<b>Боли в животе</b> Stomach ache	150	100
<b>Жидкий стул</b> Loose stools	150	100
<b>Метеоризм</b> Flatulence	44	29,3±3,7
<b>Урчание кишечника</b> Intestinal rumbling	31	20,7±3,3

в стуле появлялись патологические примеси — слизь и кровь (табл. 3).

Частота стула у большинства больных не превышала 10 раз (124 больных, 82,7%). В течении болезни объем стула имел тенденцию к уменьшению, преимущественно при частоте стула более 10 раз в сутки. Патологические примеси (слизь и кровь) наблюдались у большинства больных. Слизь присутствовала у 141 больного (94,0%). Появление примеси крови в стуле часть больных отмечала еще до госпитализации, даже при оформленном стуле. При контроле стула кровь, смешанная с фекалиями или

**Таблица 3. Частота стула при кишечном амебиозе**

Table 3. Stool frequency in intestinal amebiasis

Частота стула Stool frequency	Количество больных Number of patients n = 150	%, M±m
<b>До 5 раз в сутки</b> Up to 5 times a day	65	43,3±4,0
<b>6–10 раз в сутки</b> 6–10 times a day	59	39,3±4,0
<b>11–15 раз в сутки</b> 11–15 times a day	18	12,0±2,7
<b>Более 15 раз, «без счета»</b> More than 15 times, «without an account»	8	5,3±1,8

со слизью, выявлялась у 72 больных (48,0%). Нормализация стула происходила в среднем через 10,8 дней.

У всех больных при амебиозе кишечника отмечались боли в животе, которые в начале болезни носили диффузный характер. В дальнейшем у 56 больных (37,3%) боли локализовывались в правой подвздошной области — в области слепой кишки и восходящего отдела толстого кишечника. У 94 больных (62,7%) боли распространялись по всему толстому кишечнику и в область сигмовидной кишки. При пальпации живота отмечались болезненность, урчание и расширение слепой кишки. Сигмовидная кишка пальпировалась в виде тяжа, была спазмированной и болезненной. Боли носили постоянный, ноющий характер у 69 больных (46%). Схваткообразные, режущие боли перед актом дефекации имели место у 52 больных (35,7%). Дискомфорт в животе отмечали 29 больных (19,3%). Метеоризм наблюдался у 44 (29,3%) больных, урчание кишечника — у 31 больного (20,7%).

У больных с тяжелой формой кишечного амебиоза (8 больных) температура тела повышалась до 39,4°C, наблюдались выраженные явления интоксикации, тошнота, повторная рвота. Боли в животе носили схваткообразный характер, в ряде случаев отмечались тенезмы. Частота стула была до 15–20 раз и более в сутки. Стул у всех больных имел патологические примеси — слизь и кровь. У 6 (4,0%) больных развилось кишечное кровотечение.

Нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы наблюдались преимущественно у больных с тяжелой формой амебиоза и у больных с сопутствующей сердечно-сосудистой патологией. При высокой температуре отмечались тахикардия и умеренная гипотония. Эти нарушения стабилизировались в процессе лечения. У 5 больных с тяжелой формой кишечного амебиоза отмечалась олигурия и нарастание шлаков крови.

Эндоскопическое исследование дистального отдела толстого кишечника проведено 142 больным (94,7%). Воспалительные изменения в прямой и сигмовидной кишке обнаружены у всех больных. Катарально-фолликулярный проктосигмоидит выявлен у 57 больных (40,1%). Слизистая оболочка кишечника была гиперемированной, отечной, с выраженными фолликулами, покрытыми желтоватым творожистым налетом. У 77 больных (45,2%) на фоне гиперемированной слизистой имелись множественные геморрагии, эрозии и мелкие язвы размерами 0,3–0,5 см, редко до 1,0 см, покрытые фибрином. Классической картины изменений в толстом кишечнике, характерной для амебиоза, мы не наблюдали.

У 8 больных (5,6%) выявлен язвенный колит. Слизистая оболочка толстого кишечника была ярко гиперемированной, отечной, рыхлой, кровоточащей (легко ранимой), с большим количеством эрозий и язв. Неизмененных участков слизистой не обнаружено. В просвете ректоскопа определялось большое количество слизистогнойной массы с кровью. В периоде реконвалесценции, перед выпиской больных, ректоскопия проведена 81 больному (54,0%). Репарация слизистой установлена у 75 больных (92,6%). У 6 больных с язвенным колитом сохранялся язвенный процесс в кишечнике. После получения 3-х отрицательных результатов фекалий на амёбу больные были переведены в гастроэнтерологическое отделение для дальнейшего лечения язвенного колита.

Для подтверждения диагноза использовался копрологический метод. Микроскопическое исследования фекалий осуществлялось сразу после акта дефекации (теплый вид). При копроскопии (табл. 4) патологические примеси выявлялись у большинства больных.

Лейкоциты в фекалиях обнаруживались у всех больных: количество лейкоцитов до 30–40 в поле зрения было у 82 больных (54,7%), количество лейкоцитов более 100 в поле зрения — у 68 больных (45,3%). У 144 (96,0%) больных в фекалиях обнаружены эритроциты: до 50 эритроцитов в поле зрения — у 56 больных (38,9%), более 100 эритроцитов и до закрытия полей зрения — у 88 больных (61,1%). У 6 больных (4,0%) эритроциты в фекалиях не обнаружены.

В большинстве случаев в фекалиях обнаруживалась вегетативная тканевая форма *Entamoeba histolytica* при первичном исследовании. У ряда больных возбудитель выявлялся при повторных исследованиях: в фекалиях после солевой провокации и при исследовании слизи из ректоскопа.

Все случаи кишечного амёбиоза подтверждены лабораторно.

Изменения периферической крови у больных амёбиозом кишечника были умеренными. Анемия зарегистрирована у 73 больных (48,7%). Снижение эритроцитов крови до  $3,0 \times 10^{12}/л$ . Было у 52 больных (34,6%). У 21 больного (14,0%) число эритроцитов снижалось до  $2,3 \times 10^{12}/л$ . Выраженная анемия со снижением гемоглобина до 60 г/л была у 8 больных с тяжелой формой амёбиоза. Умеренный лейкоцитоз до  $13,8 \times 10^9/л$  наблюдался у 58 больных (38,7%). У 24 (16,0%) больных выявлена эозинофилия до 12%. Ускоренная СОЭ до 35 мм/ч была у 42 пациентов (28,0%).

Лечение больных кишечным амёбиозом носило комплексный характер. Большое внимание уделялось питанию больных: диета щадящая, высокобелковая, стол протертый. У боль-

**Таблица 4. Характер копрограммы при кишечном амёбиозе**

Table 4. The nature of the coprogram in intestinal amebiasis

Копрограмма Coprogram	Количество больных Number of patients n = 150	%, M±m
Лейкоциты до 40 в п/зр Leukocytes to 40 per field	82	54,7±4,1
Лейкоциты более 100 в п/зр Leukocytes more than 100 per field	68	45,3±4,1
Эритроциты до 50 в п/зр Erythrocytes: up to 50 per field	56	38,9±4,0
Эритроциты более 100 и до закрытия полей зрения Red blood cells more than 100 and before the closure of visual fields	88	61,1±4,0

ных с язвенным колитом стол был индивидуальным (ограничение углеводов, исключение молока, клетчатки).

Этиотропная терапия проводилась метронидазолом в дозе 750 мг 3 раза в сутки в сочетании с тетрациклином в дозе 300 мг 4 раза в сутки. При необходимости повторные курсы лечения проводились следующими препаратами: макмирор, тинидазол, тиберал. В лечение включали комплекс витаминов группы В, метилурацил (в свечах), ферменты (креон, мезим, панкреатин), энтеросорбенты (смекта, полифепан, энтеросгель), спазмолитики (ношпа, дротаверин). Больным назначали лечебные микроклизмы с раствором фурациллина, с маслом шиповника, облепиховым маслом. Инфузионная терапия полиионными растворами проводилась под контролем электролитов крови. При снижении количества белка и альбумина в крови переливалась СЗП и альбумин. Больным с тяжелой формой амёбиоза кишечника по показаниям переливалась эритроцитарная масса, вводились гемостатические препараты: дицинон, криопреципитат, препараты кальция. Проводилось лечение анемии. Повторные курсы лечения были назначены 7 больным (4,6%) в связи с обнаружением амёбы в фекалиях после проведенного курса лечения.

Исход заболевания у всех больных благоприятный. Летальных исходов не зафиксировано. Осложнение в виде кишечного кровотечения наблюдалось у 6 больных (4,0%), у которых амёбиоз протекал на фоне неспецифического язвенного колита.

С выздоровлением выписано 137 больных (91,3%), с улучшением — 7 больных (4,7%); 6 больных (4,0%) были переведены в гастроэнтерологическое отделение для дальнейшего лечения язвенного колита. В среднем пациенты с амёбиозом находились в стационаре 13,8 дней.

## Выводы

1. Острый кишечный амебиаз на современном этапе имеет типичную клиническую картину, но протекает с менее выраженными симптомами.
2. Хронизация острого кишечного амебиаза происходила в единичных случаях (3,9%).
3. Осложнение в виде кишечного кровотечения наблюдалось у больных с кишечным амебиазом при сочетании с неспецифическим язвенным колитом.

## Список литературы/References

1. Матинов Ш.К. Некоторые эпидемиологические аспекты амебиаза кишечника в Республике Таджикистан // Вестник Авиценны. 2011. № 1 (46). С. 79–80. [Matinov Sh.K. Some epidemiological aspects of intestinal amoebiasis in the Republic of Tajikistan. *Vestnik Avitsenny = Avicenna's Messenger*, 2011, no. 1 (46), pp. 79–80 (In Russ.)]
2. Нарматова Э.Б. Сравнительная характеристика течения амебиаза кишечника в сочетании с другими кишечными инфекциями // Известия ВУЗов Кыргызстана. 2008. № 5–6. С. 314–316. [Narmatova E.B. Comparative characteristics of the course of intestinal amoebiasis in combination with other intestinal infections. *Izvestiya VUZov Kyrgyzstana = News of Universities in Kyrgyzstan*, 2008, no. 5–6, pp. 314–316. (In Russ.)].
3. Улуханова Л.И., Шабалина С.В., Байсугурова М.М. Сравнительная характеристика особенностей клинического течения дизентерии Флекснера VI у детей в период вспышки и при спорадической заболеваемости // Астраханский медицинский журнал. 2012. Т. 7, № 1. С. 131–135. [Ulukhanova L.I., Shabalina S.V., Baisugurova M.M. Comparative characteristics of the clinical course of Flexner VI dysentery in children during the outbreak and with sporadic morbidity. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal = Astrakhan Medical Journal*, 2012, vol. 7, no. 1, pp. 131–135. (In Russ.)]

### Авторы:

**Черенова Л.П.**, к.м.н., доцент, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Астрахань, Россия;

**Аракельян Р.С.**, к.м.н., доцент, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Астрахань, Россия;

**Михайловская Т.М.**, зав. отделением ГБУЗ АО Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничоги, г. Астрахань, Россия.

### Authors:

**Cherenova L.P.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation;

**Arakelyan R.S.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation;

**Mikhailovskaya T.M.**, Head of the Department, A.M. Nichoga Regional Infectious Clinical Hospital, Astrakhan, Russian Federation.

Поступила в редакцию 23.12.2018  
Отправлена на доработку 21.05.2019  
Принята к печати 14.03.2020

Received 23.12.2018  
Revision received 21.05.2019  
Accepted 14.03.2020

# КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВОГО БОТУЛИЗМА В ЮЖНОМ РЕГИОНЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

С.Т. Салиева<sup>1,2</sup>, С.Т. Жолдошев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ошская межобластная объединенная клиническая больница, г. Ош, Кыргызстан

<sup>2</sup> Ошский государственный университет, медицинский факультет, г. Ош, Кыргызстан

**Резюме.** Факторами заражения ботулизмом являлись продукты домашней консервации (овощные салаты, фруктовые компоты, облепиховое варенье), маринованные огурцы и помидоры. Большая частота распространения токсина типа А и нетипируемого токсина *C. botulinum* наряду с типом В в южном регионе обуславливают тяжелое течение заболевания. Клинические проявления ботулизма представлены средней степенью тяжести в 72,3% случаев (47 больных) и тяжелой формой — в 27,7% случаев (18 больных). Легкие формы заболевания не диагностировались. Продолжительность инкубационного периода у наблюдаемых больных в среднем составляла 13,6 ч. При этом, после употребления консервированного фруктового компота и облепихового варенья инкубационный период был коротким, составив от 4 до 8 ч; после огурцов и помидоров (16 человек) — от 8 ч до 1 сут; овощных консервов (38 больных) — от 5 ч до 1,5 сут. У всех наблюдаемых больных заболевание имело острое начало с общеинтоксикационного и гастроинтестинального синдромов. Общеинтоксикационный симптомокомплекс характеризовался наличием головной боли, головокружением, общей резкой слабостью. Субфебрильная температура (37,1–37,5°C) отмечалась у пациентов с короткой инкубацией заболевания. При средней степени тяжести ботулизма данный синдром имел умеренную выраженность в 70,2±6,7% случаев, резко выраженным был в 29,8±6,8% случаях; при тяжелой форме — у всех больных имел резко выраженный характер (100%), в одном случае заболевание закончилось летальным исходом. Выраженность и стойкость неврологических нарушений имели четкую корреляцию с тяжестью болезни и указывали на прогрессирование процесса. При поступлении в стационар пациенты отмечали умеренную сухость во рту в 63,1±5,9% случаев, выраженную — 36,9±5,9% случаев. Офтальмоплегический синдром характеризовался: нечеткостью контуров предметов, диплопией, ограничением движения глазных яблок в сторону, мидриазом, вялостью или отсутствием зрачковых реакций на свет, анизокорией, птозом. При фагоназоглоссо-неврологическом синдроме ранним клиническим признаком ботулизма было нарушение глотания. Затем присоединялись девиация языка, амимия, сглаженность носогубной складки, парез мягкого неба. Фоноларингологический синдром проявлялся в зависимости от тяжести заболевания в виде различной степени выраженности дисфонии и дизартрии. Для синдрома общей мионевроплегии было характерным снижение силы в кистях рук и ног.

**Ключевые слова:** ботулизм, птоз, токсин, клинические проявления, офтальмоплегический синдром, мионевроплегия.

---

**Адрес для переписки:**

Салиева Сабир Тургунбаевна  
714000, Кыргызстан, г. Ош, ул. Ленина, 331,  
Ошский государственный университет.  
Тел.: +9 (996) 555847088.  
E-mail: salievasabira@mail.ru

**Contacts:**

Sabira T. Salieva  
714000, Kyrgyz Republic, Osh, Lenin str., 331,  
Osh State University.  
Phone: +9 (996) 555847088.  
E-mail: salievasabira@mail.ru

**Библиографическое описание:**

Салиева С.Т., Жолдошев С.Т. Клиническая характеристика пищевого ботулизма в южном регионе Кыргызской Республики // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 581–586. doi: 10.15789/2220-7619-CCO-1209

**Citation:**

Salieva S.T., Zholdoshev S.T. Clinical characteristics of foodborne botulism in the southern region of the Kyrgyz Republic // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 581–586. doi: 10.15789/2220-7619-CCO-1209

## CLINICAL CHARACTERISTICS OF FOODBORNE BOTULISM IN THE SOUTHERN REGION OF THE KYRGYZ REPUBLIC

Salieva S.T.<sup>a,b</sup>, Zholdoshev S.T.<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Osh Interregional Joint Clinical Hospital, Osh, Kyrgyz Republic

<sup>b</sup> Osh State University, Faculty of Medicine, Osh, Kyrgyz Republic

**Abstract.** The main factors of botulism transmission are identified as home-canned products (vegetable salads, fruit compotes, seaberry jam), pickled cucumbers and tomatoes. Botulism proceeds clinically as moderate-to-severe disease. High prevalence of type A and untypeable *C. botulinum* toxins along with type B species in the southern region accounts for its severe course. In our study, clinical manifestations of botulism were presented by moderate and severe clinical picture in 72.3% (47 patients) and 27.7% (18 patients) cases. No mild forms of the disease were diagnosed. Length of incubation period in examined patients on average was 13.6 hours. Upon that, a short incubation period was observed after consumption of canned fruit compote and sea buckthorn jam, cucumbers and tomatoes (16 subjects) or canned vegetables (38 subjects) on average ranging from 4 to 8 hours, 8 hours to 1 day, or 15 hours to 1.5 days, respectively. All subjects were featured with acute onset manifested as general intoxication and gastrointestinal syndromes. The former was characterized by headache, dizziness, and severe general weakness. Subfebrile temperature (37.1–37.5°C) was noted in patients with a short incubation period. Such syndrome in case of moderate disease course was also characterized by moderate severity in 70.2±6.7% cases, with acute appearance in 29.8±6.9% cases; in severe course it was featured with extremely severe course (100%), and in one case it resulted in lethal outcome. Intensity and persistence of neurological disorders clearly correlated with the disease severity, which pointed at its progression. Upon admission to the hospital, patients noted moderate and marked dry mouth in 63.1±5.9% and 36.9±5.9% cases, respectively. Ophthalmoplegic syndrome was characterized by: doubling of object contours, diplopia, limited eye movement, mydriasis, lethargy or lack of pupillary reaction to light, anisocoria, and ptosis. Phagocytoglossoneurological syndrome was early manifested by swallowing problem. Next, tongue deviation, amimia, flattened nasolabial fold, and soft palate paresis were added up. Phonolaryngology syndrome was evident depending on disease severity in a form of varying intensity of dysphonia and dysarthria. Syndrome of general myoneuropelia was characterized by lowered strength in hands and feet.

**Key words:** botulism, ptosis, toxin, clinical finding, ophthalmoplegic syndrome, myoneuropelia.

Ботулизму отводится особое место в инфектологии вследствие полиморфизма клинических проявлений с преимущественным поражением нервной системы, тяжести течения и особенностей путей передачи инфекции. Широкое употребление продуктов домашней консервации, маринованных огурцов, помидоров, копченой рыбы и мясных продуктов без соблюдения соответствующих технологий влияет на интенсивность эпидемических проявлений данной инфекции. Известны пять клинических категорий ботулизма по ВОЗ [1, 10]:

1) ботулизм пищевого происхождения является наиболее часто встречающейся формой (развивается в результате употребления в пищу продуктов, в которых содержится токсин);

2) раневой ботулизм (обусловлен токсином, который образуется в анаэробных условиях при контаминации раны спорами *Clostridium botulinum*);

3) ботулизм детского возраста (встречается только у детей до 6 месячного возраста является результатом прорастания *C. botulinum* в кишечнике и продукции токсина);

4) кишечный ботулизм взрослых (происходит колонизация кишечника *C. botulinum* и продуцирование токсина *in vivo* во время хирургических вмешательств в брюшной полости, при ахлоргидрии, болезни Крона или недавнего лечения антибиотиками);

5) непреднамеренно развивающийся ботулизм (инъекционный ботулизм) наблюдается у пациентов, которым вводят неоправданно высокие дозы терапевтического нейротоксина (например, Ботокс, Диспорт, Миоблок) или (ингаляционный ботулизм) наблюдается у лабораторных работников, которые работают с нейротоксинами.

Заражение людей происходит преимущественно в результате употребления в пищу продуктов, содержащих ботулотоксины и самих возбудителей *C. botulinum*. Течение и исходы заболевания определяются выраженностью клинических симптомов и своевременностью проведения специфической терапии. Чаще ботулизм протекает тяжело, летальность варьирует от 20 до 70% [2, 3]. Диагностика ботулизма проводится на основании клинических, эпидемиологических и лабораторных данных. Ботулизм остается сложной проблемой практического здравоохранения и заслуживает внимания специалистов различного профиля.

Цель исследования: представить клиническую характеристику пищевого ботулизма в южном регионе Кыргызской Республики.

### Материалы и методы

На базе инфекционного отделения Ошской межобластной объединенной клинической

больницы под нашим наблюдением находились 65 пациентов с диагнозом «Ботулизм» за период с 1 января 2016 г. по май 2018 г.

Комплексное обследование больных ботулизмом включало в себя сбор анамнеза, клинический осмотр, лабораторную диагностику. Диагноз подтверждался обнаружением ботулинического токсина в материалах, взятых от пациентов, в остатках пищи.

Статистическую обработку проводили с использованием SPSS программы, применяя t-критерии Стьюдента. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Возрастная и гендерная структура больных, находившихся под наблюдением, представлена в таблице 1.

По нашим данным (табл. 1) среди пациентов преимущественно была возрастная группа 21–40 лет ( $44,6 \pm 6,2\%$ ) и преобладали лица женского пола ( $67,7 \pm 5,8\%$ ). В структуре заболеваемости ботулизмом доминировали групповые вспышки ( $84,6 \pm 4,5\%$ ), а спорадические случаи зарегистрированы в  $15,4 \pm 4,5\%$  случаев. На групповые заболевания приходилось в среднем 5,7 заболевших (от 2 до 20 человек), причем 3 коллективных случая произошли во время празднования торжеств и завершились отравлением 45 человек, остальные случаи (51 человек) имели семейный характер.

Анализ проведенных эпидемиологических исследований показал, что во всех случаях имело место употребление в пищу консервированных продуктов домашнего приготовления. Этиологическим фактором передачи инфекции в  $58,5 \pm 6,1\%$  случаев послужили овощные салаты, огурцы и помидоры — в  $24,6 \pm 5,3\%$ , фруктовые компоты (из абрикоса, персиков, черешни) — в  $13,8 \pm 4,3\%$ , варенье из облепихи —  $3,1 \pm 1,2\%$ .

Изучение сезонности заболевания (рис.), показало возникновение случаев ботулизма в течение всего года, при этом, коэффициент сезонности составил в зимний период  $35,4 \pm 5,9\%$ , в весенний период —  $16,9 \pm 4,6\%$ , летом —  $9,2 \pm 3,6\%$ , осенью —  $38,5 \pm 6,1\%$ .

Таким образом, заболевание преимущественно регистрируется в осенне-зимний период, когда увеличивается употребление в пищу продуктов «заготовленных» на зиму. В этот период возникло в 2,8 раза больше случаев ботулизма, чем за остальные месяцы.

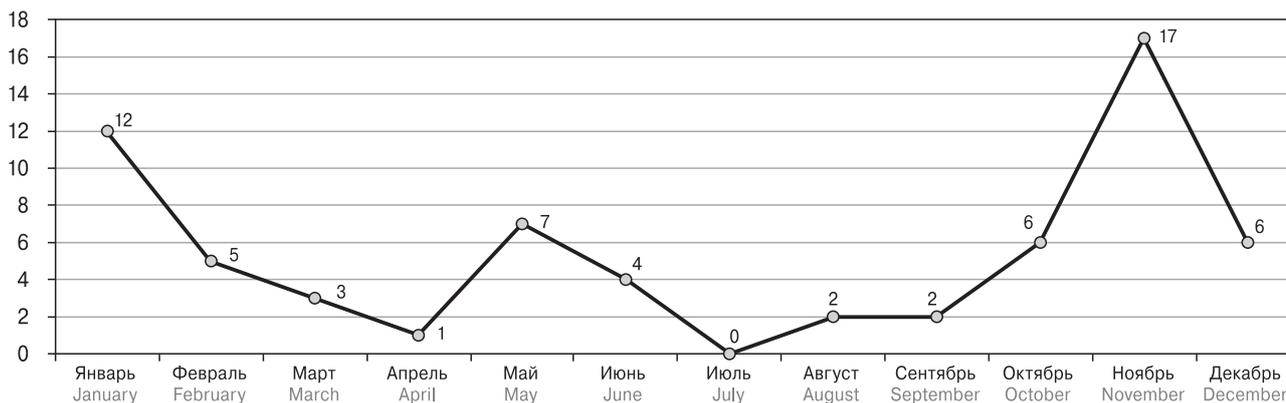
Клинические проявления ботулизма представлены средней степенью тяжести в  $72,3\%$  случаев (47 больных) и тяжелой формой — в  $27,7\%$  случаев (18 больных). Легкие формы заболевания не диагностировались.

Продолжительность инкубационного периода у наблюдаемых больных в среднем составил 13,6 ч (с колебаниями от 4 ч до 1,5 дня). При этом, после употребления консервированного фруктового компота и облепихового ва-

**Таблица 1. Возрастная и гендерная структура больных ботулизмом в южном регионе Кыргызской Республики**

Table 1. Age and gender structure of botulism patients in the southern region of the Kyrgyz Republic

Возрастная группа Age group	Пол пациентов Sex of patients				Всего Total	
	Мужской Male		Женский Female			
	n	%	n	%	n	%
До 15 лет Under 15 years old	–	–	5	7,7	5	7,7
16–20 лет 16–20 years old	5	7,7	4	6,2	9	13,9
21–30 лет 21–30 years old	7	10,8	11	16,9	18	27,7
31–40 лет 31–40 years old	3	4,6	8	12,3	11	16,9
41–50 лет 41–50 years old	–	–	9	13,8	9	13,8
51–60 лет 51–60 years old	3	4,6	3	4,6	6	9,2
Старше 60 лет Over 60 years old	3	4,6	4	6,2	7	10,8
<b>Всего</b> Total	21	32,3	44	67,7	65	100



**Рисунок. Сезонность заболевания ботулизмом в южном регионе Кыргызской Республики**

Figure. Seasonality of botulism in the southern region of the Kyrgyz Republic

рения инкубационный период был коротким, составив, в среднем  $6 \pm 1,9$  ч с колебаниями от 4 до 8 ч; после огурцов и помидоров (16 человек) —  $14,3 \pm 5,4$  ч с колебаниями от 8 ч до 1 суток; овощных консервов (38 больных) —  $15,2 \pm 9,8$  ч с колебаниями от 5 ч до 1,5 суток.

У всех наблюдаемых больных заболевание имело острое начало с общеинтоксикационного и гастроинтестинального синдромов. Общеинтоксикационный симптомокомплекс характеризовался наличием головной боли, головокружением, общей резкой слабостью. Субфебрильная температура ( $37,1$ – $37,5^\circ\text{C}$ ) отмечалась у пациентов с короткой инкубацией заболевания. При средней степени тяжести ботулизма данный синдром имел умеренную выраженность в  $70,2 \pm 6,7\%$  случаев, резко выраженным был в  $29,8 \pm 6,8\%$  случаях; при тяжелой форме — у всех больных имел резко выраженный характер (100%), в одном случае заболевание закончилось летальным исходом.

Гастроинтестинальный симптомокомплекс характеризовался у всех пациентов наличием тошноты, необильной рвоты, диареи без патологических примесей и умеренных болей в эпигастрии, которые носили быстропроходящий характер.

В первые сутки заболевания в инфекционное отделение были госпитализированы 36 пациентов ( $55,4 \pm 6,2\%$ ), на 2-е сутки — 16 ( $24,6 \pm 5,3\%$ ) больных, на 3-и сутки — 8 ( $12,3 \pm 4,1\%$ ), на 4-е сутки — 5 ( $7,7 \pm 3,3\%$ ) человек.

Паралитическая стадия заболевания развивалась к концу первых суток либо на 2-е сутки от начала заболевания. В этот период выявляли следующие классические симптомокомплексы: офтальмоплегический, фагоназоглоссоневрологический, фоноларингологический, общей мионевроплегии. Выраженность и стойкость неврологических нарушений имела четкую корреляцию с тяжестью болезни и указывала на про-

грессирование процесса. При поступлении в стационар пациенты отмечали умеренную сухость во рту в  $63,1 \pm 5,9\%$  случаев, выраженную —  $36,9 \pm 5,9\%$  случаев. Офтальмоплегический синдром характеризовался: нечеткостью контуров предметов, диплопией, ограничением движения глазных яблок в сторону, мидриазом, вялостью или отсутствием зрачковых реакций на свет, анизокорией, птозом. При фагоназоглоссоневрологическом синдроме ранним клиническим признаком ботулизма было нарушение глотания. Затем присоединялись девиация языка, амимия, сглаженность носогубной складки, парез мягкого неба. Фоноларингологический синдром проявлялся в зависимости от тяжести заболевания в виде различной степени выраженности дисфонии и дизартрии. Для синдрома общей мионевроплегии было характерным снижение силы в кистях рук и ног.

Анализ клинических проявлений ботулизма у наблюдаемых больных показал, что стойкость неврологических нарушений зависела от вида консервированного пищевого продукта (табл. 2).

По данным таблицы 2 видно, что длительность сохранения неврологических расстройств в зависимости от вида консервированного пищевого продукта не имеет достоверной разницы, но выявлена тенденция к большей стойкости при употреблении жидких консервированных продуктов в виде фруктовых компотов и облепихового варенья.

Клинический диагноз ботулизма был подтвержден обнаружением *C. botulinum* в  $80,0 \pm 4,9\%$ . Причем большая частота выделения возбудителя было из кала и рвотных масс ( $33,8 \pm 6,3\%$  и  $30,8 \pm 6,4\%$ , соответственно), из крови возбудитель был получен в  $9,2 \pm 4,0\%$ , из остатков пищи — в  $6,2 \pm 3,3\%$ . С помощью типирования токсина *C. botulinum* тип В установлен в  $32,7 \pm 6,5\%$  случаев, тип А — в  $9,6 \pm 4,1\%$ , нетипируемый токсин — в  $40,4 \pm 6,8\%$  случаев.

## Обсуждение

Кыргызстан относится к регионам с высоким уровнем заболеваемости ботулизмом [4]. Клинические и эпидемиологические особенности ботулизма фрагментарно публиковались в разные годы по материалам Республиканской клинической инфекционной больницы г. Бишкек, которые включали сведения по северному региону республики [5, 6, 8]. Сравнительный анализ эпидемиологических факторов заболевания в северном и южном регионах республики установил ведущую роль консервированных овощных салатов, маринованных огурцов и помидоров, которые встречались практически с одинаковой частотой ( $p > 0,05$ ). В северных областях также причиной ботулизма явились консервированные грибы ( $6,5 \pm 2,4\%$ ), копченые колбасы ( $5,6 \pm 2,2\%$ ) и рыба ( $0,9 \pm 0,01\%$ ), а в южном регионе — консервированные фруктовые компоты (из абрикоса, персиков, черешни) и варенье из облепихи. Выявлены отличия в сезонном подъеме заболеваемости: на севере страны — с конца декабря по февраль ( $81 \pm 3,8\%$ ), а на юге — в осенне-зимний период ( $73,8 \pm 5,5\%$ ).

Продолжительность инкубационного периода заболевания в южном регионе была значительно короче — от нескольких часов до 1,5 суток, тогда как на севере республики он был удлинен до 5 сут. На юге страны преимущественно встречались среднетяжелые и тяжелые формы заболевания, а на севере республики диагностированы и легкие формы ботулизма ( $21,5 \pm 3,9\%$ ). Тяжелое проявление инфекции — синдром дыхательных расстройств в южном регионе встречался в 2 раза чаще ( $p < 0,001$ ). При лабораторной верификации возбудителя на юге республики наряду с типом В, чаще обнаружился

тип А и нетипируемый токсин, а в северном регионе преимущественно встречается ботулотоксин типа В.

Все пациенты получали противоботулинистическую сыворотку и по тяжести проводилась интенсивная терапия (включая искусственную вентиляцию легких по показаниям). Противоботулинистическая сыворотка останавливает прогрессирование паралитических явлений болезни, уменьшает продолжительность клинических симптомов и потребность в искусственной вентиляции легких. Эффективность специфической терапии зависит от сроков ее введения, в идеале это должно происходить в течении первых 24 ч после появления симптомов [7, 9], так как сыворотка нейтрализует свободно циркулирующий в крови ботулотоксин.

## Заключение

В южном регионе Кыргызской Республики эпидемиологическая ситуация по ботулизму характеризуется как нестабильная. Пик заболеваемости за последние годы приходится на осенне-зимний период. Основные факторы заражения — продукты домашней консервации (овощные салаты, фруктовые компоты, облепиховое варенье), маринованные огурцы и помидоры. Среди заболевших преобладали женщины. Клинические формы ботулизма представлены среднетяжелыми и тяжелыми формами. Большая частота распространения токсина типа А и нетипируемого токсина *C. botulinum* наряду с типом В в южном регионе обуславливают тяжелое течение заболевания. Ботулизм остается сложной проблемой практического здравоохранения и заслуживает внимания специалистов различного профиля.

**Таблица 2. Стойкость неврологических нарушений при ботулизме в зависимости от вида консервированного пищевого продукта**

Table 2. Persistence of neurological disorders in botulism, depending on the type of canned food

Клинические симптомы Clinical syndromes	Стойкость неврологических нарушений, дни Persistence of neurological disorders, days			P
	Вид консервированного пищевого продукта/Type of canned food			
	Фруктовый компот Fruit compote	Овощной салат Vegetable salad	Помидоры, огурцы Tomatoes, cucumbers	
Офтальмоплегический Ophthalmoplegic	7,0±3,3	6,0±1,1	4,9±2,3	> 0,05
Фагоназоглоссоневрологический Phagonasoglossoneurological	6,5±2,7	5,8±1,4	4,5±2,1	> 0,05
Фоноларингологический Phonolaryngological	6,1±2,2	5,7±1,3	4,2±2,5	> 0,05
Общий мионевроплегии General myoneuroplegia	11,8±2,8	9,8±2,3	6,7±2,6	> 0,05
Проведено койко-дней Spent bed days	12±2,5	10,5±2,6	8,6±2,1	> 0,05

## Список литературы/References

1. Алексеев П.А., Сыдыкова А.Б., Глазунова М.Г. Ботулизм: методические рекомендации по проведению практических занятий. Фрунзе, 1988. 45 с. [Alekseev P.A., Sydykova A.B., Glazunova M.G. Botulism: Methodical recommendations about carrying out a practical training. *Frunze, 1988. 45 p. (In Russ.)*]
2. Береговой А.А., Мурзаева М., Джумагулова А.Ш., Сыдыкова А.Б. Клинико-эпидемиологические особенности течения пищевого ботулизма на современном этапе // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. 2015. № 2. С. 30–33. [Coastal A.A., Murzayeva M., Dzhumagulova A.Sh., Sydykova A.B. Clinical and epidemiological features of a course of food botulism at the present stage. *Vestnik KGMA im. I.K. Akhunbaeva = Bulletin KGMA named after I.K. Akhunbayev, 2015, no. 2, pp. 30–33. (In Russ.)*]
3. Кутманова А.З., Джумагулова А.Ш., Абдикеримов М.М. Ботулизм (клиника, диагностика, лечение): методические рекомендации для студентов и врачей. Бишкек, 2006. 32 с. [Kutmanova A.Z., Dzhumagulova A.Sh., Abdikerimov M.M. Botulism (clinic, diagnostics, treatment): Methodical recommendations for students and doctors. *Bishkek, 2006. 32 p. (In Russ.)*]
4. Михайлов В.В. Ботулизм. М.: Медицина, 1980. 184 с. [Mikhaylov V.V. Botulizm. *Moscow: Medicine, 1980. 184 p. (In Russ.)*]
5. Никифоров В.Н., Никифоров В.В. Ботулизм. Л.: Медицина, 1985. 199 с. [Nikiforov V.N., Nikiforov V.V. Botulizm. *Leningrad: Medicine, 1985. 199 p. (In Russ.)*]
6. Суранчиева Р.К. Клиника и диагностика ботулизма // Острые желудочно-кишечные инфекции: сб. науч. тр. кафедр инфекционных болезней и детских инфекций. Фрунзе, 1977. Т. 116. С. 98–103. [Suranchiyeva R.K. Clinics and diagnostics of botulism. In: Acute gastrointestinal infections. Collection of scientific works of departments of infectious diseases and children's infections. *Frunze, 1977, vol. 116, pp. 98–103. (In Russ.)*]
7. Chang G.Y., Ganguly G. Early antitoxin treatment in wound botulism results in better outcome. *Eur. Neurol., 2003, vol. 49, pp. 151–153.*
8. Lindström M., Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. *Clin. Microbiol. Rev., 2006, vol. 19, no. 2, pp. 298–314.*
9. Tacket C.O., Shandera W.X., Mann J.M., Hargrett N.T., Blake P.A. Equine antitoxin use and other factors that predict outcome in type A foodborne botulism. *Am. J. Med., 1984, vol. 76, pp. 794–798.*
10. WHO. Clostridium botulinum. International programme on chemical safety poisons information Monograph 858 Bacteria. *WHO, 2002. 32 p.*

**Авторы:**

**Салиева С.Т.**, ординатор Ошской Областной объединенной клинической больницы, г. Ош, Кыргызстан; аспирант Ошского государственного университета, г. Ош, Кыргызстан;  
**Жолдошев С.Т.**, д.м.н., Ошская Областная объединенная клиническая больница, г. Ош, Кыргызстан; доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и курсом инфекционных болезней медицинского факультета Ошского государственного университета, г. Ош, Кыргызстан.

**Authors:**

**Salieva S.T.**, Resident Physician, Osh Interregional Joint Clinical Hospital, Osh, Kyrgyz Republic; PhD Student, Medical Faculty, Osh State University, Osh, Kyrgyz Republic;  
**Zholdoshev S.T.**, PhD, MD (Medicine), Osh Interregional Joint Clinical Hospital, Osh, Kyrgyz Republic; Associate Professor, Department of Epidemiology, Microbiology and Infectious Diseases, Medical Faculty, Osh State University, Osh, Kyrgyz Republic.

Поступила в редакцию 28.05.2019  
 Отправлена на доработку 25.11.2019  
 Принята к печати 11.03.2020

Received 28.05.2019  
 Revision received 25.11.2019  
 Accepted 11.03.2020

# ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ПРИ COVID-19

О.В. Воробьева, А.В. Ласточкин

ФГОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия

**Резюме.** COVID-19 — острая респираторная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2, вызывающая пневмонию, поражение сердечно-сосудистой системы и других органов, с высоким риском смерти, особенно у гериастрических пациентов. В связи с актуальностью проблемы, цель исследования — описание случая COVID-19 тяжелого течения с развитием полиорганной недостаточности. *Материалы и методы.* Проведен анализ полученной сопроводительной медицинской документации (амбулаторная карта пациента, история болезни). Проведен клиничко-морфологический анализ с помощью описания макро- и микропрепаратов, использованы гистологические методы (гематоксилином и эозином, реакция по Ли). *Результаты.* Больная К.Г., 69 лет, находилась на стационарном лечении в терапевтическом отделении с диагнозом: Ишемическая болезнь сердца. Острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST от 20.04.2020 г. Конкурирующий: Внебольничная двухсторонняя полисегментарная пневмония тяжелой степени. На фоне проводимого лечение состояние больной ухудшилось, наступила биологическая смерть. По результатам секционного исследования выявилась двусторонняя субтотальная геморрагическая пневмония. При макроскопическом исследовании: с разрезов легких стекает обильный геморрагический экссудат. В головном мозге — периваскулярный и перицеллюлярный отек, гиалиноз, явления стаза и сладжа, выраженные дистрофические и некротические изменения нейронов. В сердце выявляются участки фрагментации кардиомиоцитов, участки периваскулярного склероза с воспалительными инфильтратами, в сосудах — эритроцитарные сладжи. Слабоположительная реакция по Ли. Данный клиничко-морфологический случай демонстрирует, кроме поражения легких, вовлечение в процесс сердца с развитием острого коронарного синдрома (морфологически проявляющийся ишемической дистрофией миокарда) и головного мозга. Таким образом, наличие преморбидного фона у пожилых пациентов приводит к развитию острой легочно-сердечной недостаточности, отеку легких и головного мозга.

**Ключевые слова:** COVID-19, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, пневмония.

## ORGAN-SPECIFIC PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES DURING COVID-19

Vorobeva O.V., Lastochkin A.V.

I.N. Ulianov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

**Abstract.** COVID-19 is an acute respiratory infection caused by SARS-CoV-2 coronavirus causing pneumonia, lesions in the cardiovascular system and other organs, high mortality risk, especially in geriatric patients. Due to the great relevance, this study was aimed at describing the case of severe COVID-19 with development of multiple organ failure. *Materials and methods.* Available accompanying medical documentation (outpatient charts, medical history) was analyzed. Clinical and morphological analysis was carried out by providing description of macro- and micropreparations; histological

---

### Адрес для переписки:

Воробьева Ольга Васильевна  
428015, Россия, г. Чебоксары, Московский пр., 15,  
ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет  
им. И.Н. Ульянова.  
Тел.: 8 927 858-05-18 (моб.).  
E-mail: olavorobeva@mail.ru

### Contacts:

Olga V. Vorobeva  
428045, Russian Federation, Cheboksary, Moskovskii pr., 15,  
I.N. Ulianov Chuvash State University.  
Phone: +7 927 858-05-18 (mobile).  
E-mail: olavorobeva@mail.ru

---

### Библиографическое описание:

Воробьева О.В., Ласточкин А.В. Патоморфологические изменения в органах при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 587–590. doi: 10.15789/2220-7619-PCI-1483

### Citation:

Vorobeva O.V., Lastochkin A.V. Organ-specific pathomorphological changes during COVID-19 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 587–590. doi: 10.15789/2220-7619-PCI-1483

methods (hematoxylin and eosin staining, Lee reaction) were used. *Results.* Female patient K.G., 69 years old, was hospitalized to the therapeutic department diagnosed with coronary heart disease. Acute coronary syndrome with ST segment elevation was made on 04/20/2020. A competing diagnosis: severe community-acquired bilateral multi-segmental pneumonia. The patient's condition was aggravated while applying therapy followed by biological death occurred. An autopsy revealed bilateral subtotal hemorrhagic pneumonia. Macroscopic lung examination demonstrated "lungs filled with red fluid". In the brain — perivascular and pericellular edema, hyalinosis, blood stasis and sludge, marked dystrophic and necrotic neuronal changes. Cardiomyocyte fragmentation, areas of perivascular sclerosis with inflammatory infiltrates as well as erythrocytic sludge are found in the heart and blood vessels, respectively. A weak positive reaction according to Lee method was observed. Such clinical and morphological case demonstrates along with lung damage involvement of the heart resulting in acute coronary syndrome (morphologically manifested by ischemic myocardial dystrophy) and the brain. Thus, premorbid background in elderly patients results in developing acute pulmonary heart failure, pulmonary and cerebral edema.

**Key words:** COVID-19, coronary heart disease, arterial hypertension, pneumonia.

COVID-19 — потенциально тяжелая острая респираторная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2. Представляет собой опасное заболевание, которое может протекать как в форме острой респираторной вирусной инфекции с легким течением, так и в тяжелой форме, специфические осложнения которой могут включать вирусную пневмонию, влекущую за собой острый респираторный дистресс-синдром или дыхательную недостаточность с высоким риском смерти. Как известно, вирус попадает в клетку путем присоединения белка пепломера к рецептору ангиотензин-превращающего фермента 2 типа (ACE 2) [1, 2, 3]. Рецепторы ACE 2 представлены на клетках дыхательного тракта, почек, пищевода, мочевого пузыря, подвздошной кишки, сердца, центральной нервной системы. Однако основной и быстро достижимой мишенью являются альвеолоциты II типа, что определяет развитие пневмонии. Обсуждается роль CD147 в инвазии клеток SARS-CoV-2 [4, 5]. После присоединения к рецептору, вирус SARS-CoV-2 проникает в клетку [3]. Помогает проникновению протеаза TMPRSS2. Белок ACE2 также находится в клетках миокарда и эндотелии сосудов. Учитывая наличие белка ACE2 в клетках сердечной мышцы, коронавирус может непосредственно оказывать разрушительное влияние на сердце [5]. Как известно, белок ACE2 является частью обширной гормональной системы организма человека, называемой ренин-ангиотензин-альдостероновой системой, которая регулирует кровяное давление, работу сердечно-сосудистой системы и почек. После заражения вирус распространяется через слизь по дыхательным путям, вызывая большой выброс цитокинов и иммунный ответ в организме. При этом может наблюдаться снижение количества лимфоцитов в крови, в частности Т-лимфоцитов. Уменьшение их количества также снижает защитные способности иммунной системы и может приводить к обострению сопутствующих хронических заболеваний [3, 4]. Тяжелая форма COVID-19 имеет высокий уровень смертности,

связана с более старшим возрастом и сопутствующими заболеваниями, такими как: ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, сахарный диабет.

В связи с актуальностью проблемы, цель исследования — описание случая COVID-19 тяжелого течения с развитием полиорганной недостаточности.

## Материалы и методы

Проведен анализ полученной сопроводительной медицинской документации (амбулаторная карта пациента, история болезни). Проведен клинико-морфологический анализ с помощью описания макро- и микропрепаратов, использованы гистологические методы (окраска гематоксилином и эозином, реакция по Ли).

## Результаты

Больная К.Г., 69 лет, с 17.04.2020 г. по 20.04.2020 г. находилась на стационарном лечении в терапевтическом отделении с диагнозом: ИБС: Острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST от 20.04.2020 г. Конкурирующим диагнозом была внебольничная двухсторонняя полисегментарная пневмония тяжелой степени.

Поступила в сопровождении бригады скорой медицинской помощи с жалобами на слабость, повышение температуры до 37,8°C, кашель с незначительной мокротой. Из анамнеза известно, что ухудшение состояния отмечала с 10.04.20 (7 суток назад), когда появилась слабость, повысилась температура тела до 38°C. Был вызван участковый терапевт на дом. Было назначено лечение: амоксициллин — по 1 таблетке 3 раза в день, амброгексал — 4 раза в день. На фоне лечения состояние положительной динамики не отмечалось, сохранялась слабость, кашель со слизистой мокротой, высокая температура тела до 38°C. 17.04.2020 г. пациентка вышла в магазин, потеряла сознание и скорой помощью была доставлена в приемное отделение больницы.

Проведенные обследования: общий анализ крови от 17.04.2020 г.: лейкоциты:  $8,18 \times 10^9/\text{л}$  (норма 3,39–8,86), эритроциты:  $4,71 \times 10^{12}/\text{л}$  (норма 3,91–5,31), гемоглобин — 135 г/л (норма 111–147), тромбоциты:  $215 \times 10^9/\text{л}$  (норма 171–388), нейтрофилы:  $7,14 \times 10^9/\text{л}$  (норма 1,50–5,00), процент нейтрофилов: 87,3% (норма 40,2–71,4), лимфоциты:  $0,63 \times 10^9/\text{л}$  (норма 1,05–2,87), процент лимфоцитов: 7,7% (норма 21,6–49,0). Биохимический анализ крови от 17.04.2020 г.: мочевина: 13,8 ммоль/л (норма 2,8–8,3), билирубин общий: 10,5 мкмоль/л (норма 2,0–21,0), билирубин прямой: 2,3 мкмоль/л (норма 0,1–5,1), АСТ: 50,2 Ед/л (норма 1,0–35,0), АЛТ: 16,7 Ед/л (норма 1,0–45,0), креатинин: 130,5 мкмоль/л, С-реактивный белок: 283 мг/л (норма 0–6), глюкоза крови: 6,00 ммоль/л (норма 3,50–5,80), показатели коагулограммы в допустимых пределах нормы.

На ЭКГ от 17.04.2020 г. — умеренное снижение вольтажа зубцов, замедление внутрипредсердной проводимости, блокада передней ветви левой ножки пучка Гиса.

При рентгенографии легких: признаки двусторонней полисегментарной пневмонии, застой по малому кругу кровообращения, не исключается формирование отека легких.

В динамике ЭКГ 19.04.2020 г. по сравнению с ЭКГ от 18.04.2020 г. — появилась атриовентрикулярная блокада I степени. Реполяризация ухудшилась: положительный зубцы Т стали меньше по амплитуде во II, III, aVF отведениях.

ЭКГ от 20.04.2020 г.: подъем сегмента ST до 3–4 мм в III, aVF отведениях, признаки блокады правой ножки пучка Гиса.

Несмотря на комплексное лечение, включавшее антибиотики, противовирусные препараты, отхаркивающие средства, профилактику тромбоэмболии легочной артерии, оксигенацию и поддерживающую терапию, состояние пациентки ухудшилось. Периферическое капиллярное насыщение кислородом ( $\text{SpO}_2$ ) снизилось до 62,6%, а частота сердечных сокращений — до 40 ударов в минуту, 20.04.2020 г. в 21 ч 40 мин. констатирована биологическая смерть пациентки.

Выставлен посмертный клинический диагноз: Основное заболевание: ИБС: Острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST от 20.04.2020 г. Конкурирующий диагноз: Внебольничная двухсторонняя полисегментарная пневмония тяжелой степени. Осложнения основного заболевания: Отек легких. Сопутствующее заболевание: Цереброваскулярная болезнь: Дисциркуляторная энцефалопатия сложного генеза с когнитивными нарушениями.

При секционном исследовании установлена двусторонняя субтотальная геморрагическая пневмония. При макроскопическом исследо-

вании верхняя и средняя доли правого легкого и верхняя доля левого легкого умеренной воздушности; нижние доли обоих легких уплотненные, тяжелые, безвоздушные; на срезах верхние доли — розово-красные, при надавливании с поверхности среза стекала красноватая пенная жидкость в повышенном количестве. При гистологическом исследовании выявлялись неравномерно расправленные альвеолы, с дистрофическими изменениями альвеолярного эпителия, пристеночно-расположенными розовыми гомогенными массами (отечная жидкость), местами заполняющими весь просвет альвеол. В срезах, выполненных с нижних долей легких, определяются: десквамация альвеолярного эпителия, отек, встречается мононуклеарная инфильтрация, фибринозный экссудат, гиалиновые мембраны. Межальвеолярные перегородки утолщены за счет отека и полнокровия. Признаки отека с геморрагическим компонентом, местами инфильтрация эритроцитами легочной паренхимы с выходом форменных элементов в просвет альвеол (рис. 1, вклейка, с. IV). Во многих сосудах обнаруживались эритроцитарные сладжи.

Морфологические признаки энцефалопатии сложного генеза — полушария головного мозга дряблые, корковое вещество неравномерно истончено, белое вещество губчатого вида. При гистологическом исследовании выявляется периваскулярный и перицеллюлярный отек головного мозга. Атеросклероз сосудов головного мозга в стадии атероматоза и кальциноза (стеноз 50–75%). Периваскулярно встречались гиалиновые «шары». Явления стаза и сладжа. Выраженные дистрофические и некротические изменения нейронов (рис. 2, вклейка, с. IV).

Сердце дряблое, толщина стенки правого желудочка — 0,3 см, левого — 1,8 см. Миокард плотный, бледно-коричневый с многочисленными прожилками белесовато-серого цвета. При гистологическом исследовании — кардиомиоциты неравномерно гипертрофированы, выявляются участки фрагментации кардиомиоцитов, периваскулярные участки склероза с воспалительными инфильтратами, в сосудах — эритроцитарные сладжи (рис. 3, 4, вклейка, с. IV). В интерстициальной ткани — оптические пустоты. Коронарные артерии с плотными, неравномерно утолщенными стенками, просвет на поперечных разрезах сужен за счет атеросклеротических бляшек (стеноз 30–50%). В просвете ветвей легочной артерии жидкая кровь и сгустки. Интима аорты на всем протяжении бледно-желтого цвета, покрыта жировыми пятнами, полосками и атеросклеротическими бляшками в стадии атероматоза и кальциноза. Выявляется слабоположительная реакция по Ли (рис. 5, вклейка, с. IV).

Результат вирусологического исследования от 21.04.2020 г.: в легком обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Результат бактериологического исследования от 21.04.2020 г.: из кусочков легкого отмечается массивный рост *Enterococcus Faecalis*, скудный рост *Candida albicans*.

Таким образом, выставлен патологоанатомический диагноз: Основное заболевание: Коронавирусная инфекция SARS-CoV-2, острая двусторонняя субтотальная пневмония. Осложнения основного заболевания: Отек легких. Отек головного мозга. Острая ишемическая дистрофия миокарда. Сопутствующие заболевания: Атеросклероз артерий сердца (стеноз 30–50%) и головного мозга в стадии атероматоза и кальциноза (стеноз 50–75%). Диффузный кардиосклероз. Гипертоническая болезнь: гипертрофия миокарда левого желудочка (1,8 см). Энцефалопатия сложного генеза: дисциркуляторной, атеросклеротической, гипертонической этиологии, медленно прогрессирующее течение (клинически).

## Заключение

Зачастую частыми осложнениями COVID-19 является острый респираторный дистресс-синдром, септический шок, повреждения миокарда, вторичные бактериальные и грибковые инфекции, полиорганная недостаточность [1, 2, 3].

Вирус COVID-19 поражает легкие и сердце несколькими путями. Во-первых, возможно рецептор-опосредованное проникновение в клетки. Во-вторых, вирус способен индуцировать воспаление и изменять проницаемость стенок и нарушать взаимодействие «легкие–сердце» и таким образом дополнительно способствовать прогрессированию респираторных и сердечных симптомов [4, 5]. При COVID-19 возникает избыточное пропотевание жидкости и белка в ткань легких, массивное разрушение сурфактанта и коллапс альвеол с резким снижением газообмена и возникновением отека легких. На фоне COVID-19 также повреждается сердечно-сосудистая система, особенно тяжелое течение заболевание приобретает у гериатрических пациентов с предсуществующим поражением сердца на фоне ишемической болезни сердца и прогрессивного атеросклероза.

В данном клинико-морфологическом случае, кроме поражения легких, описывается острый коронарный синдром (морфологически проявлявшийся ишемической дистрофией миокарда) и дисциркуляторная энцефалопатия, субстратом для развития которых служат хроническая гемодинамически значимая субокклюзия кровеносных сосудов. Таким образом, наличие преморбидного фона (ИБС, артериальная гипертензия) у пожилых пациентов приводят к развитию острой легочно-сердечной недостаточности, отеку легких, головного мозга.

## Список литературы/References

1. Driggin E., Madhavan M.V., Bikdeli B., Chuich T., Laracy J., Bondi-Zoccai G., Brown T.S., Nigoghossian C., Zidar D.A., Haythe J., Brodie D., Beckman J.A., Kirtane A.J., Stone G.W., Krumholz H.M., Parikh S.A. Cardiovascular considerations for patients, health care workers, and health systems during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2020. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.031
2. Johns Hopkins University. Coronavirus COVID-19 global cases by the center for systems science and engineering (CSSE). URL: <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6> (01.04.2020)
3. Li R., Pei S., Chen B., Song Y., Zhang T., Yang W., Shaman J. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV2). *Science*, 2020. doi: 10.1126/science.abb3221
4. Mizumoto K., Kagaya K., Zarebski A., Chowell G. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama. *Euro Surveill.*, 2020, vol. 25, no. 10. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000180
5. World Health Organization: Coronavirus disease (COVID-19) situation dashboard. URL: <https://experience.arcgis.com/experience/685d0ace521648f8a5beeeee1b9125cd> (01.04.2020)

### Авторы:

**Воробьева О.В.**, к.м.н., доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия;

**Ласточкин А.В.**, старший преподаватель кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия; врач-патологоанатом БУ Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы МЗ Чувашии, г. Чебоксары, Россия.

### Authors:

**Vorobeva O.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation;

**Lastochkin A.V.**, Senior Lecturer, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation; Pathologist, Republican Bureau of Forensic Medicine, Cheboksary, Russian Federation.

Поступила в редакцию 16.05.2020

Принята к печати 25.05.2020

Received 16.05.2020

Accepted 25.05.2020

# СЕЛЕКТИВНАЯ СИНТЕТИЧЕСКАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА «АЦИНЕТОБАКТЕР ФЕНИЛАЛАНИН АГАР» ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ КОМПЛЕКСА *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* — *ACINETOBACTER BAUMANNII*

Е.П. Сиволодский<sup>1,2</sup>, Г.В. Горелова<sup>1</sup>, С.П. Богословская<sup>1</sup>, Е.В. Зуева<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Цель исследования — клиничко-микробиологическая апробация селективной питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* (комплекса АСВ). В 2018 г. клиничко-бактериологической лаборатории Военно-медицинской академии были изучены 400 проб клинического материала (отделяемое ран, кровь, моча, бронхо-альвеолярные смывы) параллельно традиционным методом [посев на кровяной агар, выделение и идентификация чистых культур биохимическими тестами и микробиологическим анализатором «Vitek 2» (bioMérieux)] и посевом на чашки с питательной средой «Ацинетобактер фенилаланин агар». Селективность этой среды обусловлена трофической селекцией ацинетобактеров L-фенилаланином в качестве единственного источника азота и углерода и дополнительной селекцией триметопримом. Ацинетобактеры комплекса АСВ идентифицировали через 18–24 ч инкубации при 37°C по наличию характерных колоний на селективной среде. Контрольные тесты на цитохромоксидазу и ОФ-тест с глюкозой пероксидводородным микрообъемным методом (в течение 1 ч) позволяли в экспресс-режиме отличать ацинетобактеры комплекса АСВ от других бактерий и группы ацинетобактеров неокисляющих глюкозу. Далее определяли вид всех выделенных штаммов ацинетобактеров методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с время пролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF MS). Ацинетобактеры были выделены на селективной среде в 26 пробах (18 проб в монокультуре, 8 — в ассоциации с *Pseudomonas aeruginosa* или *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* при очень мелких колониях ассоциантов); традиционным методом — в 20 пробах (7 — в монокультуре, 13 — в ассоциации с синегнойной палочкой, клебсиеллами, эшерихиями, цитробактером, провиденциями, стафилококками, энтерококками, *C. albicans*). Методом MALDI-TOF MS было установлено, что из 26 штаммов ацинетобактеров, выделенных на селективной среде, 25 относятся к комплексу АСВ (*A. baumannii* — 23, *A. pittii* — 2). Один штамм (*A. baylyi*) не относился к видам комплекса АСВ. Следовательно, диагностическая специфичность селективной синтетической питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» по выделению и идентификации бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* составляет 96,2%, а ее диагностическая чувствительность превышает на 25% традиционный метод. Применение селективной среды ускоряет

## Адрес для переписки:

Зуева Елена Викторовна  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.  
Тел.: 8 921 382-50-07 (моб.).  
E-mail: elenazueva9@gmail.com

## Contacts:

Elena V. Zueva  
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,  
St. Petersburg Pasteur Institute.  
Phone: +7 921 382-50-07 (mobile).  
E-mail: elenazueva9@gmail.com

## Библиографическое описание:

Сиволодский Е.П., Горелова Г.В., Богословская С.П., Зуева Е.В. Селективная синтетическая питательная среда «Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 591–596. doi: 10.15789/2220-7619-ASS-1177

## Citation:

Sivolodskii E.P., Gorelova G.V., Bogoslovskaya S.P., Zueva E.V. Selective synthetic growth medium "Acinetobacter phenylalanine agar" for isolation and identification of *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex species // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 591–596. doi: 10.15789/2220-7619-ASS-1177

исследование — выделение и идентификация ацинетобактеров комплекса АСВ завершается через 18–24 ч после посева клинического материала. Селективность питательной среды потенциально стабильна, так как ее основной трофический фактор селекции не зависит от приобретенной антибиотикоустойчивости бактерий. Как синтетическая питательная среда она пригодна для стандартизованных исследований.

**Ключевые слова:** бактерии комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii*, селективная синтетическая питательная среда, L-фенилаланин, триметоприм, стабильная селекция, стандартизация исследований.

## SELECTIVE SYNTHETIC GROWTH MEDIUM «ACINETOBACTER PHENYLALANINE AGAR» FOR ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ACINETOBACTER CALCOACETICUS — ACINETOBACTER BAUMANNII COMPLEX SPECIES

Sivolodskii E.P.<sup>a,b</sup>, Gorelova G.V.<sup>a</sup>, Bogoslovskaya S.P.<sup>a</sup>, Zueva E.V.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** The aim of the study was to carry out clinical and microbiological testing of selective growth medium *Acinetobacter phenylalanine agar* to isolate and identify bacterial species belonging to the *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex (ACB complex). For this, 400 samples of clinical material (wound discharge, blood, urine, bronchoalveolar lavage) were examined in 2018 in the Clinical and Bacteriological Laboratory of the Military Medical Academy by using routine assays (seeding on blood agar growth medium, pure culture isolation and identification by using biochemical assays as well as VITEK 2 microbial identification system, bioMerieux) and plating together with growth medium *Acinetobacter phenylalanine agar* selective to *Acinetobacter* spp. owing to L-phenylalanine as a sole nitrogen and carbon source additional selected with trimethoprim. ACB complex *Acinetobacter* were identified 18–24 hours later after incubation at 37°C by emergence of typical colonies on selective medium. Control tests for cytochrome oxidase as well as oxidative/fermentation (OF)-glucose test by using peroxide-hydrogen microvolume method (for 1 h) allowed to rapidly distinguish ACB complex *Acinetobacter* from other bacteria as well as from *Acinetobacter* spp. unable to glucose oxidation. Next, species identity for all isolated *Acinetobacter* strains was established by using matrix-activated laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). It was found that by using novel vs. routine assay *Acinetobacter* spp. were isolated in 26 (18 samples — in monoculture, 8 — in association with *Pseudomonas aeruginosa* or *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* with tiny associate colonies) vs. 20 (7 — in monoculture, 13 — in association with *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Providencia*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *C. albicans*). Using MALDI-TOF MS method revealed that 25 out of 26 *Acinetobacter* strains isolated on selective growth medium belonged to the ACB complex (*A. baumannii* — 23, *A. pittii* — 2), whereas one strain (*A. baylyi*) did not belong to ACB complex. Hence, the diagnostic specificity of the *Acinetobacter phenylalanine agar* synthetic growth medium for isolation and identification of the *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* complex species comprised 96.2%, with diagnostic sensitivity exceeding that one for routine assay by 25%. Use of selective growth medium accelerates research by allowing to isolate and identify ACB complex *Acinetobacter* spp. 18–24 h later after plating clinical material. Selectivity of growth medium was potentially stable, as its major trophic selection factor did not depend on acquired bacterial antibiotic resistance, which is also suitable as a synthetic growth medium for standardized studies.

**Key words:** bacteria of the *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex, selective synthetic nutrient medium, L-phenylalanine, trimethoprim, stable selection, standardization of studies.

## Введение

Бактерии рода *Acinetobacter* неожиданно быстро вошли в группу приоритетных возбудителей раневых и госпитальных инфекций. При этом ведущее клиническое значение имеет вид *Acinetobacter baumannii*. Ввиду фенотипического сходства *A. baumannii* и некоторых видов ацинетобактеров при лабораторной диагностике допускается их идентификация как «бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii*» (комплекса АСВ), включающего виды *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* [5, 8]. Предложено также включить в этот комплекс виды *A. dijkschoorniae* [4], *A. seifertii* [7].

Для выделения и идентификации ацинетобактеров применяли отечественную этанол-аммонийную среду ЭАС. Однако она недостаточно селективна и требует длительного исследования (более 48 ч). Использовали также селективно-дифференциальную среду Лидс (*Leeds Acinetobacter Medium*) [6]. Ее селективность обеспечивает комплекс трех антибиотиков (ванкомицин, цефсулодин, цефрадин), однако он допускает рост многих видов неферментирующих бактерий и энтеробактерий. На хромогенной среде CHROM agar *Acinetobacter* (CHROMagar, Франция), содержащей селективные антибиотики, также возможен рост некоторых псевдомонад и энтеробактерий. Общим недостатком

указанных питательных сред, селективность которых обусловлена антибиотиками, является неуклонное снижение их селективности в связи с повсеместным возрастанием антибиотикостойчивости бактерий. Нами была разработана селективная синтетическая питательная среда для выделения и идентификации ацинетобактеров комплекса АСВ, основанная на принципе трофической селекции [1].

Цель исследования — клинико-микробиологическая апробация селективной синтетической питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii*.

## Материалы и методы

*Клинический материал и схема его исследования.* Изучали 400 проб клинического материала (отделяемое ран, кровь, мочу, бронхоальвеолярные смывы), выделенного в клиниках Военно-медицинской академии в 2018 г. Материал исследовали в клинико-бактериологической лаборатории параллельно традиционным методом (посев на кровяной агар, выделение чистых культур бактерий, идентификация их биохимическими тестами и микробиологическим анализатором «Vitek 2» (bioMérieux, Франция) и посевом на чашки с селективной питательной средой «Ацинетобактер фенилаланин агар». Ацинетобактеры комплекса АСВ идентифицировали через 18–24 ч инкубации при 37°C по наличию характерных колоний на селективной среде. Контрольными тестами на цитохромоксидазу и ОФ-тест с глюкозой пероксидводородным микробъемным методом (в течение 1 ч) дифференцировали ацинетобактеры комплекса АСВ от других бактерий и группы ацинетобактеров, неокисляющих глюкозу. Далее определяли вид всех выделенных штаммов ацинетобактеров методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF MS).

*Питательные среды.* Для приготовления кровяного агара и культивирования чистых культур бактерий применяли «Колумбийский агар» (НИЦФ, Санкт-Петербург). Для изготовления селективной питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» использовали L-Phenylalanine (CAS по 63-91-2) производства Sigma-Aldrich (Швейцария) и Trimethoprim (CAS по 738-70-5) производства Merck (США).

*Методика изготовления селективной питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар».* Питательная среда была разработана Сиволодским Е.П. [1]. Состав питательной среды: L-фенилаланин (CAS по 63-91-2) 2,0–3,0 г;

триметоприм (CAS по 798-70-5) 0,006–0,01 г; диметилсульфоксид 6–10 мл; NaCl 5,0 г; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2,0 г; KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,0 г; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,5 г; MgSO<sub>4</sub> 0,1 г; агар микробиологический 15,0 г; вода дистиллированная 1 л; pH 7,2±0,2. Приготовление: в 1 л дистиллированной воды вносят все ингредиенты, кроме триметоприма, растворяют при нагревании, кипятят 5 мин, добавляют триметоприм (6 мл 0,1% раствора в диметилсульфоксиде), проверяют pH 7,2, разливают в стерильные чашки Петри. Среда прозрачная, пригодная к использованию в течение 30 сут при хранении от 4 до 8°C. Контроль питательной среды: суточные бульонные культуры контрольных штаммов (клинические штаммы *A. baumannii*, *Klebsiella oxytoca* и штамм *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) засевают по одной петле радиальным штрихом на поверхность испытываемой среды в чашке, инкубируют аэробно при 37°C 24 ч; среда пригодна к использованию, если имеется пышный рост бактерий *A. baumannii*; рост *P. aeruginosa* отсутствует или очень угнетен (очень мелкие микроколонии), отсутствует рост *K. oxytoca*.

*Методика применения селективной питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii*.* Исследуемый материал, например, отделяемое ран засевают тампоном или бактериологической петлей на поверхность сектора селективной среды (¼ часть чашки Петри); для количественного изучения используют по 100 мкл соответствующего разведения материала (мочи, бронхоальвеолярного смыва) и растирают шпателем по всей поверхности среды в чашке. Посевы инкубируют аэробно при 37°C в течение 18–24 ч. Затем определяют принадлежность бактерий к ацинетобактерам комплекса АСВ по наличию характерных колоний диаметром 1–2 мм, круглых, выпуклых, с ровными краями, светло-серого цвета, непрозрачных. Контрольную проверку бактерий из колоний или газона бактерий проводят тестом на цитохромоксидазу (в течение 20 с) и экспрессным (1 ч) определением окисления и ферментации глюкозы (ОФ-тест) пероксидводородным микробъемным методом [2]. Ацинетобактеры комплекса АСВ оксидазоотрицательные; не ферментируют, но окисляют глюкозу в течение 1 ч. Ацинетобактеры группы неокисляющих глюкозу не окисляют и не ферментируют глюкозу в течение 1 ч, оксидазоотрицательные. Иногда на селективной среде наблюдается очень подавленный рост колоний *P. aeruginosa*: мелко-точечные колонии менее 0,1 мм, окруженные прозрачной пленкой, оксидазоположительные. Очень редко наблюдается подавленный рост клебсиелл; мелкие колонии 0,1 мм, выпуклые,

светло-белые; оксидазоотрицательные, ферментируют глюкозу в течение 1 ч.

**Методика теста на цитохромоксидазу бактерий.** Наносят на фильтровальную бумагу в чашке несколько капель свежеприготовленного 1% водного раствора тетраметил-парафенилендиамина. Запаянным концом пастеровской пипетки или платиновой петлей отбирают часть колонии или газона исследуемых бактерий и наносят их на влажную бумагу с реактивом. Появление синей окраски комочка бактерий в течение 20 с указывает на наличие цитохромоксидазы. Отсутствие окраски или появление ее в более поздние сроки указывает на отрицательный результат.

**Методика пероксидводородного микрообъемного ОФ-теста для экспресс-определения (1 ч) окисления и ферментации глюкозы грамотрицательными бактериями.** Используют «Набор для определения ферментации и окисления глюкозы (ОФ-теста) пероксидводородным микрообъемным методом» (производства НИИЭМ имени Пастера, Санкт-Петербург). Набор содержит среду № 1 (для ферментации глюкозы) — 100 мл 1% раствора D-глюкозы в фосфатно-буферной основе pH 7,6 с индикатором фенол-рот. Пергидроль (30% раствор пероксида водорода) 5 мл. Среду № 2 (для окисления глюкозы) готовят из среды № 1 путем внесения 10 мл среды № 1 в отдельный флакон, добавления 0,2 мл пергидроля до конечной концентрации пероксида водорода 0,6% в среде № 2. Среда № 2 пригодна к использованию в течение 12 ч. В лунки полимерного планшета вносят раздельно по 0,1 мл среды № 1 (для ферментации глюкозы) и среды № 2 (для окисления глюкозы). Исследуемую культуру вносят полную петлю диаметром 2 мм (не платиновой) в лунку со средой № 1 и перемешивают. Таким же образом засевают культуру в лунку со средой для окисления глюкозы, в которой при перемешивании наблюдается бурное выделение пузырьков газа (кислорода) вследствие действия каталазы бактерий на пероксид водорода в среде. Посевы инкубируют аэробно при 37°C в течение 1 ч. Изменение исходного красного цвета среды № 1 в желтый означает ферментацию глюкозы; переход окраски среды в желтый цвет и газообразование в лунке со средой № 2 указывает на окисление глюкозы. Отсутствие изменения окраски среды в обеих лунках при газообразовании в среде № 2 указывает на отсутствие ферментации и окисления глюкозы. Контроли — те же среды без посева бактерий.

**Методика идентификации вида ацинетобактеров методом MALDI-TOF масс-спектрометрии.** Использовали настольный масс-спектрограф «Microflex» с базой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Inc., Германия).

Подготовку к исследованию чистых культур бактерий и проведение исследований осуществляли в соответствии с инструкцией к прибору.

## Результаты

При сравнительном исследовании в клинико-бактериологической лаборатории 400 проб клинического материала традиционным методом и селективной питательной средой «Ацинетобактер фенилаланин агар» были выделены бактерии комплекса АСВ на селективной питательной среде в 26 пробах (18 проб в монокультуре; 8 — в ассоциациях, из них 7 с *P. aeruginosa*, 1 с *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*). Традиционным методом были выделены бактерии комплекса АСВ в 20 пробах (7 проб в монокультуре, 13 — в ассоциациях с *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Providencia rettgeri*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*). Методом MALDI-TOF MS было установлено, что из 26 штаммов ацинетобактеров, выделенных на селективной среде, 25 относятся к видам комплекса АСВ (*A. baumannii* — 23, *A. pittii* — 2). Один штамм (*A. baylyi*) не принадлежит к видам комплекса АСВ. Следовательно, диагностическая специфичность селективной синтетической питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» по выделению и идентификации бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* составляет 96,2%, а ее диагностическая чувствительность превышает на 25% традиционный метод. Применение селективной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» ускоряет диагностическое исследование: выделение и идентификация бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* завершается через 18–24 ч после посева клинического материала. Исследование традиционным методом требует 48–72 ч.

## Обсуждение

Основным селективным фактором питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» является L-фенилаланин, который в качестве единственного источника углерода и азота синтетической среды непосредственно определяет положительную селекцию ацинетобактеров и отрицательную селекцию прочих микроорганизмов. Дополнительный селективный фактор триметоприм предназначен только для подавления роста бактерий *Burkholderia cepacia*. Признак утилизации L-фенилаланина в качестве единственного источника углерода широко представлен у бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii*: *A. calcoaceticus* — 100% [5, 8], *A. baumannii* — 80% [5], 84% [8]; *A. pittii* — 75% [8]; *A. nosocomialis* — 93% [5], 85% [8]; *A. seifertii* — 100% [4],

86% [7]; *A. dijkschoorniae* — 100% штаммов [4]. По нашим данным, полученным в 2018 г., частота утилизации L-фенилаланина в качестве единственного источника углерода и азота у *A. baumannii* (n = 118 штаммов) —  $95,8 \pm 1,7\%$ ; *A. pittii* (n = 9 штаммов) —  $66,7\%$ ; *A. nosocomialis* (n = 7 штаммов) — 100% штаммов [3].

Результаты испытания селективной среды в клиничко-бактериологической лаборатории подтверждают высокую интенсивность утилизации L-фенилаланина ацинетобактерами комплекса АСВ, что обеспечивает высокую скорость их роста — формирование пышных колоний максимального размера (1–2 мм) с характерными признаками через 18–24 ч инкубации при 37°C. Дифференцирующие признаки колоний ацинетобактеров комплекса АСВ настолько характерны и отличаются от колоний возможных ассоциантов, что позволяют использовать их в качестве ключевого признака идентификации. Контрольные тесты на цитохромоксидазу, ОФ-тест с глюкозой позволяют экспрессно (1 ч) отличить ацинетобактеры комплекса АСВ от синегнойной палочки, клебсиелл и группы ацинетобактеров, неокисляющих глюкозу.

При апробации селективной среды был выявлен широкий спектр ее ингибиторного действия на микроорганизмы проб клинического материала. В 18 из 26 проб были выделены монокультуры ацинетобактеров комплекса АСВ. В 8 пробах имелся резко подавленный рост ассоциантов в виде мелкоочечных колоний синегнойной палочки или клебсиелл. Отсутствовал рост энтеробактерий, стафилококков, энтерококков, *C. albicans*, которые росли на кровяном агаре. Следует отметить, что известная селективно-дифференциальная среда Лидс менее ингибиторная. По данным ее авторов [6], она допускает рост *Serratia marcescens*, *Providencia rettgeri*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*. На хромогенной питательной среде «CHROM agar Acinetobacter» (CHROMagar, Франция) возможен рост некоторых штаммов синегнойной палочки и сerratий. На указанных средах также возможен рост других бактерий, получивших устойчивость к селективным антибиотикам питательной среды. Диагностическая специ-

фичность селективной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» — 96,2%, так как один из выделенных штаммов (*A. baylyi*) не относится к видам комплекса АСВ. Ее диагностическая чувствительность превышает на 25% традиционный метод. Вероятно, этот результат обусловлен выявлением бактерий комплекса АСВ при низких концентрациях их в пробах, ввиду высокой аналитической чувствительности селективной среды. Ранее нами было установлено, что аналитическая чувствительность этой питательной среды для бактерий *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* составляет 1–2 КОЕ мл<sup>-1</sup> [1].

## Заключение

Апробация в клиничко-бактериологической лаборатории селективной синтетической питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» установила, что эта среда обеспечивает выделение и идентификацию ацинетобактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* через 18–24 ч инкубации при 37°C по наличию роста характерных колоний. Иногда отмечается слабый рост ассоциантов *P. aeruginosa* или *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*. Контрольные тесты на экспрессное определение цитохромоксидазы и ОФ-теста с глюкозой (пероксидводородным микробоъемным методом в течение 1 ч) обеспечивают дифференциацию ацинетобактеров комплекса АСВ от синегнойной палочки, клебсиелл и группы неокисляющих глюкозу ацинетобактеров. Диагностическая чувствительность среды по выделению и идентификации ацинетобактеров комплекса АСВ превышает традиционный метод на 25%, диагностическая специфичность составляет 96,2%. Селективность питательной среды потенциально стабильна, так как ее основной трофический фактор селекции не зависит от приобретенной антибиотикоустойчивости бактерий. Эта синтетическая среда не требует стерилизации паровым стерилизатором и пригодна для стандартизации исследований. На питательную среду получен патент РФ на изобретение № 2660567 от 2018 г. [1]. Питательная среда производится НИИЭМ имени Пастера, Санкт-Петербург.

## Список литературы/References

1. Патент № 2660567 Российская Федерация, МПК C12Q 1/04 (2006.01); C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/02 (2006.01). Способ выделения и идентификации бактерий комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii*: № 2017130632; заявлено 29.08.2017; опубликовано 06.07.2018 / Сиволодский Е.П. Патентообладатель: Сиволодский Е.П. 8 с. [Patent No. 2660567 Russian Federation, Int. Cl. C12Q 1/04 (2006.01); C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/02 (2006.01). Method for isolation and identification of bacteria of *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex. No. 2017130632; application: 2017.08.29; date of publication 2018.07.06 / Sivolodskii E.P. Proprietors: Sivolodskii E.P. 8 p.]
2. Сиволодский Е.П. Пероксидводородный микробоъемный метод ОФ-теста: экспрессное определение окисления и ферментации глюкозы грамотрицательными бактериями // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1991. № 1. С. 14–17. [Sivolodskii E.P. Hydrogen peroxide microvolume method of the of test the rapid determination of the oxidation and fermentation of glucose by gram-negative bacteria. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii* = *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1991, no. 1, pp. 14–17. (In Russ.)]

3. Сиволодский Е.П., Зуева Е.В. Таксономическое и прикладное значение профилей утилизации белковых аминокислот бактерий *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter nosocomialis* // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2018. № 4 (64). С. 113–116. [Sivolodskii E.P., Zueva E.V. Taxonomic and applied value of profiles utilization of protein amino acids of bacteria *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter nosocomialis*. *Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii* = *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*, 2018, no. 4 (64), pp. 113–116. (In Russ.)]
4. Cosgaya C., Mari-Almirall M., Van Assche A., Fernandez-Orth D., Mosqueda N., Telli M., Huys G., Higgins P., Seifert H., Lievens B., Roca I., Vila J. *Acinetobacter dijkshoorniae* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2016, vol. 66, pp. 4105–4111. doi: 10.1099/ijsem.0.001318
5. Gerner-Smidt P., Tjernberg I., Ursing J. Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. *J. Clin. Microbiol.*, 1991, vol. 29, no. 2, pp. 277–282.
6. Jawad A., Hawkey P.M., Heritage J., Shnellung A.M. Description of Leeds *Acinetobacter* medium, a new selective and differential medium for clinically important *Acinetobacter* spp. and comparison with Herella agar and Holton's agar. *J. Clin. Microbiol.*, 1994, vol. 32, no. 10, pp. 2353–2358.
7. Nemes A., Krizova L., Maixnerova M., Sedo O., Brisse S., Higgins P.G. *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2015, vol. 65, pp. 934–942. doi: 10.1099/ijsem.0.000043
8. Nemes A., Krizova L., Maixnerova M., Van der Reijden T.J., Deschaght P., Passet V., Venechoutte M., Brisse S., Dijkshoorn L. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13 TU). *Res. Microbiol.*, 2011, vol. 162, pp. 393–404.

**Авторы:**

**Сиволодский Е.П.**, д.м.н., профессор кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург; старший научный сотрудник ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Горелова Г.В.**, врач-бактериолог микробиологической лаборатории Центральной клинко-диагностической лаборатории ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Богословская С.П.**, врач-бактериолог микробиологической лаборатории Центральной клинко-диагностической лаборатории ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Зуева Е.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Sivolodskii E.P.**, PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Microbiology, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg; Senior Researcher, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

**Gorelova G.V.**, Bacteriologist, Microbiological Laboratory, Central Clinical Diagnostic Laboratory, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation;

**Bogoslovskaya S.P.**, Bacteriologist, Microbiological Laboratory, Central Clinical Diagnostic Laboratory, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation;

**Zueva E.V.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 09.04.2019  
Отправлена на доработку 03.06.2019  
Принята к печати 05.06.2019

Received 09.04.2019  
Revision received 03.06.2019  
Accepted 05.06.2019

## 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, кДа 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 <a href="http://www.e-library.ru">www.e-library.ru</a> . 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](http://www.agrk.org) — индекс 41392.  
 Цена свободная.  
 Подписка на электронную версию журнала  
 на сайте [www.elibrary.ru](http://www.elibrary.ru)**

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

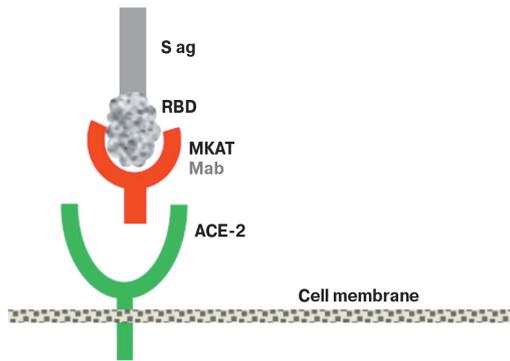
Агарков Н.М.	558	Кибардин А.В.	469	Сиволодский Е.П.	591
Алимов А.В.	486	Коленчукова О.А.	551	Слонова Д.А.	469
Антипова А.Ю.	570	Колобухина Л.В.	421	Смирнов В.С.	446
Аракельян Р.С.	575	Костинов А.М.	524	Стариков А.А.	459
Асланов Б.И.	533	Костинов М.П.	524	Стоянова Н.А.	533
Ахматова Н.К.	524	Кружкова И.С.	421	Стукова М.А.	506
Бичурина М.А.	570	Куртасова Л.М.	515	Сюзюмова Е.А.	533
Богословская С.П.	591	Лаврентьева И.Н.	570	Тельнова Н.В.	533
Бузицкая Ж.В.	506	Ларин С.С.	469	Токаревич Н.К.	533
Бургасова О.А.	421	Ласточкин А.В.	587	Тотолян Арег А.	446
Васильев К.А.	506	Лубнина Т.В.	515	Турдиева Ш.Т.	543
Виноградова Т.И.	506	Лядова И.В.	459	Фельдблюм И.В.	486
Воробьева О.В.	587	Магассуба Н <sup>Ф</sup> .	570	Чалапа В.И.	486
Георгиев Г.П.	469	Макарова М.А.	565	Черенова Л.П.	575
Гнучев Н.В.	469	Макарян А.С.	558	Шакина Н.А.	515
Гонтарева И.С.	558	Малеев В.В.	421	Шамансурова Э.А.	543
Горелова Г.В.	591	Михайловская Т.М.	575	Шапарь А.О.	533
Егорова С.А.	565	Мошев А.В.	551	Шмитько А.Д.	524
Жолдошев С.Т.	581	Новикова С.В.	524	Шурыгина А.-П.С.	506
Заболотных Н.В.	506	Полищук В.Б.	524	Щелканов М.Ю.	421
Захарова Ю.А.	486	Посвятенко А.В.	469	Dasch G.A.	497
Зуева Е.В.	591	Пшеничная Н.Ю.	497	Eremeeva M.E.	477, 497
Игнатъева М.А.	524	Сависько А.А.	524	Karpathy S.E.	497
Иголина Е.П.	486	Салиева С.Т.	581	Madan A.	497
Камара Ж.	570	Сарматова Н.И.	551	Muniz-Rodriguez K.	477
Кафтырева Л.А.	565	Семенов А.В.	410	Sturgeon M.M.	497
				Willard J.K.	497

## ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

2019-nCoV	421	мионевроплегия	581	энтеровирусы	486
артериальная гипертензия	587	моноклональные антитела	446	эпидемическая кривая	410
Африка	570	моноциты крови	551	эпидемический очаг	486
бактерии комплекса		нозокомиальная инфекция	486	язва желудка	543
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> —		острый кишечный амебиаз	575	Ag85A	506
<i>Acinetobacter baumannii</i>	591	офтальмоплегический синдром	581	<i>Betacoronavirus</i>	421
беременные	524	патогенез	421	<i>Coronaviridae</i>	421
ботулизм	581	паттерн-ассоциированные		COVID-19	410, 421, 446, 459, 587
бронхообструктивный синдром	515	рецепторы	469	<i>Coxsackievirus</i>	486
вагинальные инфекции	524	пептидогликан-распознающие		<i>Drosophila melanogaster</i>	469
вакцина БЦЖ	459, 506	белки	469	<i>E. coli</i>	565
вакцинация	459, 570	плазма реконвалесцентов	446	<i>Echovirus</i>	486
витамин D	524	пневмония	587	ecology	477
вода	575	подростки	543	EHEC	565
врожденный иммунитет	469	программа элиминации кори	570	epidemiology	477
гастроуденальная патология	543	проточная цитометрия	506	ESAT-6	506
гастроэнтерит	575	профилактика	533	genotyping	497
гетерологичный иммунитет	459	птоз	581	<i>Helicobacter pylori</i>	543
гипертрофия глоточной миндалины	515	ревакцинация	570	intergenic regions	497
гриппозный вектор	506	респираторная инфекция	515	<i>Liponyssoides sanguineus</i>	477, 497
дети	543, 558	респираторный взрыв	551	L-фенилаланин	591
диагностика хронического		Санкт-Петербург	533	MDR-AmpC	565
пародонтита	558	селективная синтетическая		MERS-CoV	446
дигидрохлорохин	446	питательная среда	591	mite	477, 497
дискриминантный метод	558	серотерапия	446	MRSA	551
заболеваемость	533	системный иммунитет	558	MSSA	551
иксодовые клещи	533	стабильная селекция	591	multilocus sequence typing	497
иммунный ответ	469	стандартизация исследований	591	<i>Nidovirales</i>	421
интерфероны	524	T-клетки памяти	506	O26:H11	565
инфицированность	533	токсин	581	PGLYRP	469
Италия	410	толстый кишечник	575	PGRP	469
ишемическая болезнь сердца	587	тренированный иммунитет	459	<i>Rickettsia akari</i>	477, 497
клещевой энцефалит	533	триметоприм	591	rickettsiae	477, 497
клиническая картина	421	фагоцитоз	551	rickettsialpox	477, 497
клинические проявления	581	фекалии	575	<i>S. Kentucky</i>	565
колит	575	фермент	515	<i>S. Newport</i>	565
контроль над эпидемией	410	хемилюминесценция	551	<i>Sarbecovirus</i>	421
коронавирус	410, 421, 446	хлорохин	446	SARS-CoV	446
корреляция	515	хронический гастрит	543	SARS-CoV-2	410, 421
корь	570	Цитовир-3	446	spotted fever group rickettsiae	497
лечение	421	цитокины	524	ST198	565
лимфоцит	515	шигеллез	575	ST21	565
международный клон высокого		энтеровирусная (неполио) инфекция	486	tandem repeats	497
риска	565				

**Иллюстрации к статье «Некоторые возможности иммунотерапии при коронавирусной инфекции» (авторы: В.С. Смирнов, Арег А. Тотолян) (с. 446–458)**

Illustrations for the article “Some opportunities for immunotherapy in coronavirus infection” (authors: Smirnov V.S., Totolian Areg A.) (pp. 446–458)

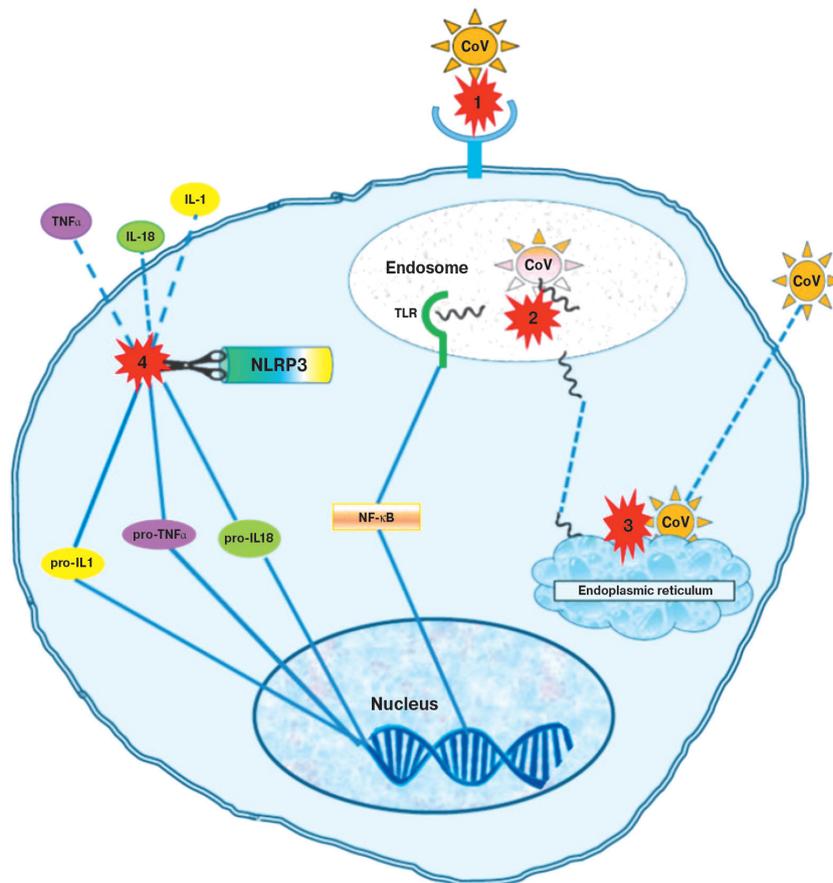


**Рисунок 1. Упрощенная схема связывания SARS-CoV MKAT**

Figure 1. Simplified SARS-CoV Mab binding scheme

RBD домен SP аффинно связывается с моноклональным антителом (МКАТ). В результате CoV утрачивает способность связываться с ACE2, при этом блокируется способность вируса внедряться в восприимчивую клетку и транспортироваться в эндосому. Таким образом, происходит полная блокировка инвазивной способности вируса.

The RBD domain of SP affinity binds to a monoclonal antibody (Mab). As a result, CoV loses its ability to bind to ACE2, while blocking the ability of the virus to invade a susceptible cell and transport it to the endosome. Thus, a complete blockage of the invasive ability of the virus occurs.



**Рисунок 2. Упрощенная схема действия хлорохина и дигидрохлорохина**

Figure 2. A simplified scheme of action of chloroquine and dihydrochloroquine

1. Хлорохин или дигидрохлорохин гликозилирует SP, препятствуя связыванию CoV с ACE2;
2. Хлорохин и дигидрохлорохин как слабые основания подщелачивают эндосому (Endosome), препятствуя слиянию вирусной и эндосомальной мембран, высвобождению вирусной РНК и миграции ее в эндоплазматическую сеть (Endoplasmic reticulum);
3. Щелочная среда подавляет репликацию и высвобождение вируса;
4. Хлорохин и дигидрохлорохин подавляют активацию NLRP3-инфламмосомы и препятствуют созреванию провоспалительных цитокинов: pro-IL-1, pro-IL-18, TNFα и др.

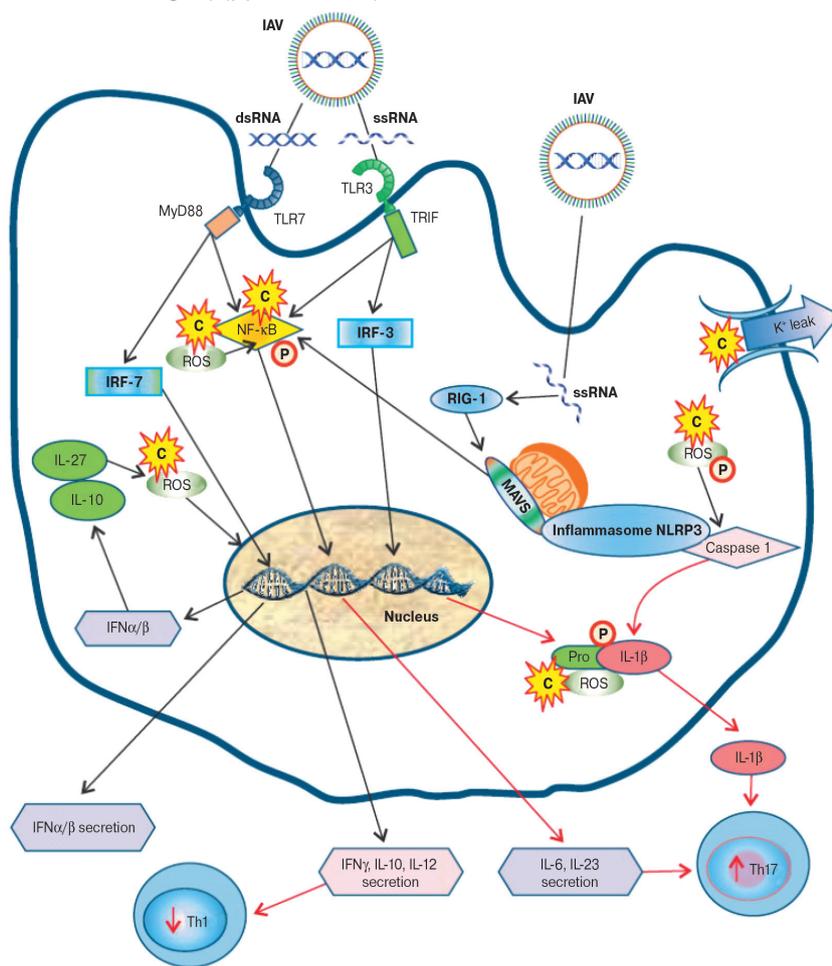
Более подробное описание механизма действия хлорохина и дигидрохлорохина приведено в тексте. Точки приложения синтетических производных хинина показаны красными звездочками с номерами этапов. Черные волнистые линии — вирусная РНК. Синие штриховые линии — прерывание переноса РНК или выделения цитокинов. Для наглядности на схеме опущено большинство адаптерных белков-посредников, участвующих во внутриклеточном регуляторном каскаде.

1. Chloroquine or dihydrochloroquine glycosylates SP, inhibiting the binding of CoV to ACE2;
2. Chloroquine and dihydrochloroquine, as weak bases, alkalize the endosome, preventing the fusion of the viral and endosomal membranes, the release of viral RNA and its migration into the endoplasmic reticulum;
3. Alkaline environment inhibits the replication and release of the virus;
4. Chloroquine and dihydrochloroquine inhibit the activation of NLRP3-inflammasomes and inhibit the maturation of pro-inflammatory cytokines: pro-IL-1, pro-IL-18, TNFα, etc.

A more detailed description of the mechanism of action of chloroquine and dihydrochloroquine is given in the text. The application points of the synthetic derivatives of quinine are shown by red asterisks with stage numbers. Black wavy lines — viral RNA. Blue dashed lines indicate interruption of RNA transfer or cytokine secretion. For clarity, the scheme omitted most of the adapter intermediary proteins involved in the intracellular regulatory cascade.

**Иллюстрации к статье «Некоторые возможности иммунотерапии при коронавирусной инфекции» (авторы: В.С. Смирнов, Арег А. Тотолян) (с. 446–458)**

Illustrations for the article “Some opportunities for immunotherapy in coronavirus infection” (authors: Smirnov V.S., Totolian Areg A.) (pp. 446–458)



**Рисунок 3. Топография возможных точек приложения препарата Цитовир-3 в патогенезе гриппа**

Figure 3. Topography of possible points of application of the drug Cytovir-3 in the pathogenesis of influenza

Вирусная RNA распознается TLR, локализованными на эндосоме, преимущественно TLR3 и TLR7, которые активируют адаптерные белки TLR/IL-1, рецепторный доменсодержащий адаптер, индуцирующий IFN $\beta$  (TRIF) и первично отвечающий ген 88 миелоидной дифференцировки (MyD88) соответственно. Активированные TRIF и MyD88 действуют на IRF-3, IRF-7 и NF- $\kappa$ B. IRF-3 и IRF-7 транслоцируются в ядро и запускают выработку IFN $\alpha/\beta$ . NF- $\kappa$ B запускает продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов, включая pro-IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 и IL-12. Цитоплазматическая вирусная RNA распознается RIG-1, который связывается с его адаптером — митохондриальным противовирусным сигнальным белком (MAVS), активирующим IRF-3 и NF- $\kappa$ B, что в дальнейшем приводит к выработке IFN $\alpha/\beta$ , IL-1, IL-8, IL-6 и др. Активация NF- $\kappa$ B в дополнение ко второму сигналу, свидетельствующему о клеточном стрессе (изменение внутриклеточной концентрации ионов, ROS, утечка K<sup>+</sup> и т.д.), вызывает образование NOD-подобной NLRP3-инфламмосомы, которая активирует каспазу-1, необходимую для расщепления pro-IL-1 $\beta$  до зрелого IL-1 $\beta$  и pro-IL-18 до зрелого IL-18 (не показано). Стрелки, направленные вверх и вниз, показывают преобладающий тип иммунного ответа у детей по сравнению со взрослыми. Преимущественная стимуляция цитокинами Th2 и Th17, эффективных главным образом в отношении внеклеточных патогенов, ограничивает клиренс внутриклеточных агентов, в т.ч. вирусов, у детей. Цитовир-3 инактивирует реактивные формы кислорода (ROS), блокирует утечку калия через калиевые каналы, угнетает активность NF- $\kappa$ B, подавляя таким образом выработку провоспалительных цитокинов и угнетая, но не блокируя полностью, репликацию вируса. В итоге, суммарный эффект Цитовира-3 заключается в снижении провоспалительной активности вируса и, соответственно, в уменьшении риска развития постинфекционных осложнений.

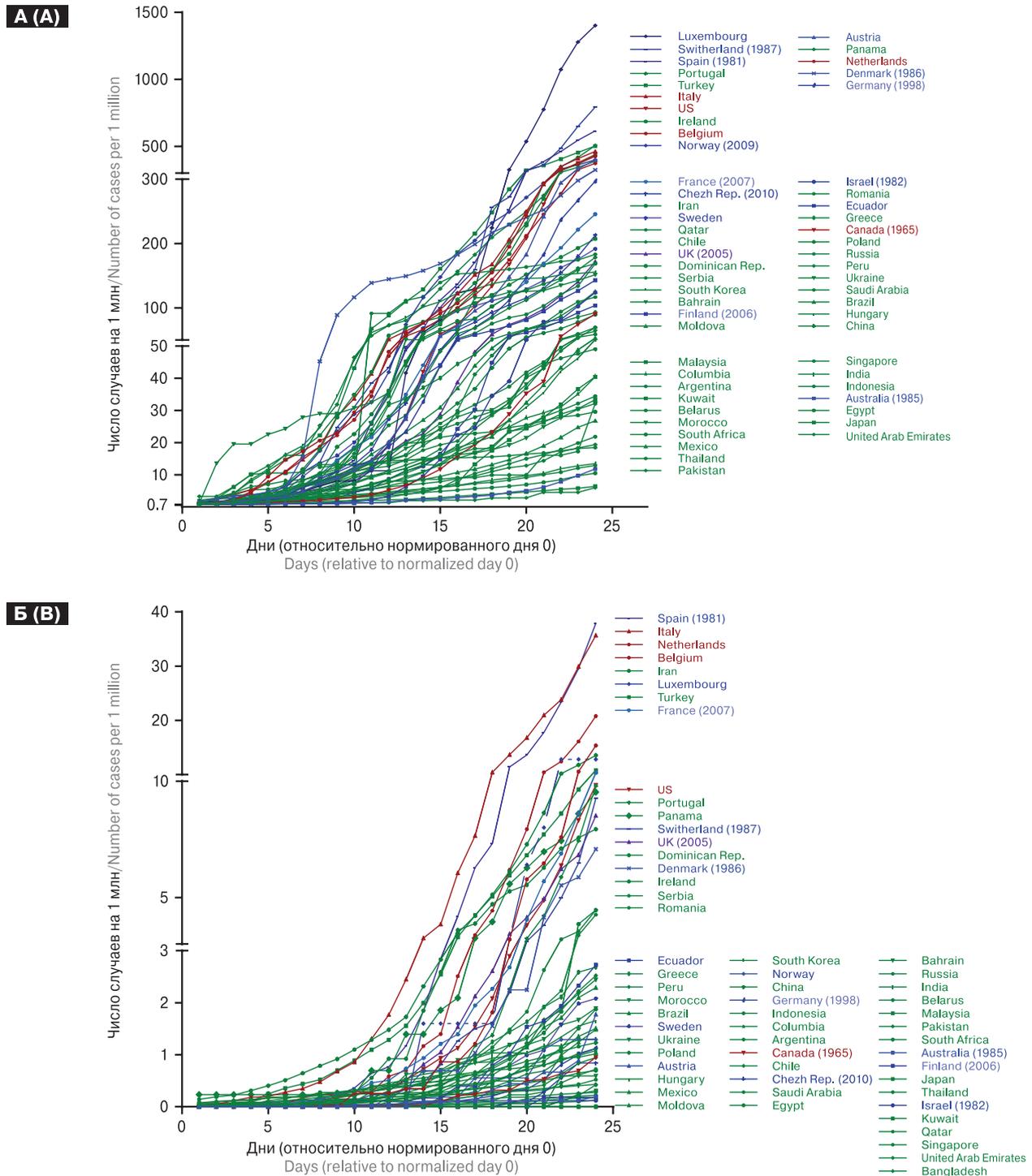
IAV — вирус гриппа типа A; dsRNA — двуспиральная RNA; ssRNA — односпиральная RNA; P — ион фосфора; IFN $\alpha/\beta/\gamma$  — типы интерферонов; IRF-3/7 — интерферон-рецептивные гены 3 и 7 соответственно; pro-IL-1 $\beta$  — незрелая форма IL-1 $\beta$ ; Цитовир-3 обозначен желтыми звездочками с красной литерой C в центре [по: 2].

Viral RNA is recognized by TLRs localized on the endosome, predominantly TLR3 and TLR7, which activate the adapter proteins TLR/IL-1, the receptor domain-containing adapter that induces IFN $\beta$  (TRIF) and the primary response gene 88 of myeloid differentiation (MyD88), respectively. Activated TRIF and MyD88 act on IRF-3, IRF-7, and NF- $\kappa$ B. IRF-3 and IRF-7 translocate to the nucleus and trigger the production of IFN $\alpha/\beta$ . NF- $\kappa$ B triggers the production of pro-inflammatory cytokines and chemokines, including pro-IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 and IL-12. Cytoplasmic viral RNA is recognized by RIG-1, which binds to its adapter — mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS), stimulating IRF-3 and NF- $\kappa$ B and their products — IFN $\alpha/\beta$ , IL-1, IL-8, IL-6 and coact. Activation of NF- $\kappa$ B in addition to the 2nd signal indicating cell stress (changes in intracellular ion concentration, ROS, K<sup>+</sup> leak, etc.), causes the formation of NOD-like NLRP3 inflammasomes, which activates caspase-1, necessary for the cleavage of pro-IL-1 $\beta$  to mature IL-1 $\beta$  and pro-IL-18 to mature IL-18 (not shown). The up and down arrows show the relative cytokine response in children compared with adults. The overall consequences can move from the Th1 response towards the Th2 and Th17 prevailing response, which is more effective against clearance of the intracellular pathogen, leading children to the risk of developing an intracellular virus. Tsitovir-3 inactivates reactive oxygen species (ROS), blocks the leakage of potassium through potassium channels, inhibits the activity of NF- $\kappa$ B, thereby inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines and inhibiting, but not completely blocking, the replication of the virus. As a result, the overall effect of Cytovir-3 is to reduce the pro-inflammatory activity of the virus and, accordingly, reduce the risk of post-infection complications.

IAV — type A influenza virus; dsRNA — double-stranded RNA; ssRNA — single-stranded RNA; P is a phosphorus ion; IFN $\alpha/\beta/\gamma$  — types of interferons; IRF-3/7 — interferon-responsive genes 3 and 7, respectively; pro-IL-1 $\beta$  is an immature form of IL-1 $\beta$ ; Cytovir-3 is indicated by yellow stars with a red letter C in the center [ref.: 2].

**Иллюстрации к статье «COVID-19 и вакцинация БЦЖ: есть ли связь?»  
(авторы: И.В. Лядова, А.А. Стариков) (с. 459–468)**

Illustrations for the article “COVID-19 and BCG vaccine: is there a link?”  
(authors: Lyadova I.V., Staricov A.A.) (pp. 459–468)



**Рисунок. Страновая динамика показателей заболеваемости (А) и смертности (Б) от COVID-19**

Figure. Cross-country dynamics of COVID-19 morbidity (A) and mortality (B)

В анализ включены страны с общим количеством случаев более 2000 по состоянию на 21 апреля 2020 г. Данные нормированы относительно первого дня, в который количество случаев COVID-19 в стране превысило 0,7 на миллион населения. Красный цвет — страны, не применявшие политику обязательной БЦЖ-вакцинации для всего населения; синий цвет — страны, ранее применявшие, но отменившие политику обязательной БЦЖ-вакцинации (в скобках указан год прекращения вакцинации); зеленый цвет — страны, применяющие политику обязательной БЦЖ-вакцинации в настоящее время. Страны перечислены в порядке убывания количества случаев (смертности) COVID-19 в каждом из трех сегментов стран.

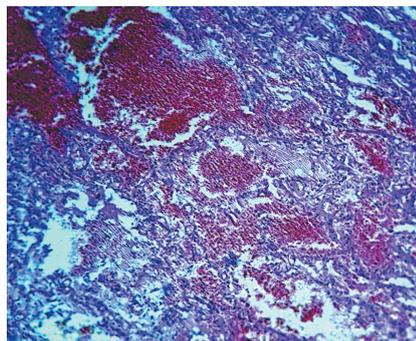
Included in the analysis are countries with > 2000 cases of COVID-19 (as of April 21, 2020). Data are normalized to the first day when the number of COVID-19 cases exceeded 0.7 per million population. Red, countries that have never implemented national BCG vaccination policy for all. Blue, countries that stopped national BCG vaccination policy for all (year when BCG vaccination was stopped is indicated in the brackets). Green, countries with current national BCG vaccination policy for all. Within each of the three groups, countries are listed in decreasing order.

**Иллюстрации к статье «Патоморфологические изменения в органах при COVID-19»**

**(авторы: О.В. Воробьева, А.В. Ласточкин) (с. 587–590)**

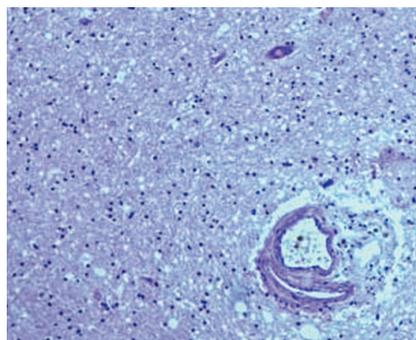
Illustrations for the article "Organ-specific pathomorphological changes during COVID-19"

(authors: Vorobeva O.V., Lastochkin A.V.) (pp. 587–590)



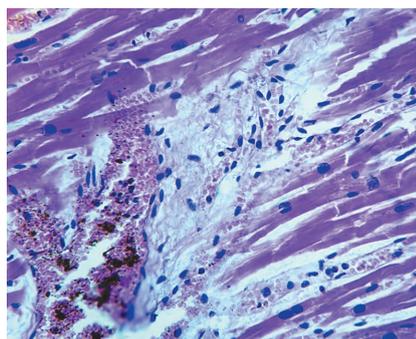
**Рисунок 1. Микроскопическая картина острой вирусной геморрагической пневмонии: инфильтрация эритроцитами легочной паренхимы с выходом форменных элементов в просвет альвеол. Участки некроза альвеолярного эпителия с обнажением базальной мембраны. Окраска гематоксилином и эозином, ×400**

Figure 1. Microscopic picture of acute viral hemorrhagic pneumonia: erythrocyte infiltration of the pulmonary parenchyma with the release of shaped elements into the lumen of the alveoli. Sites of necrosis of the alveolar epithelium with exposure of the basement membrane. Hematoxylin and eosin stain, ×400



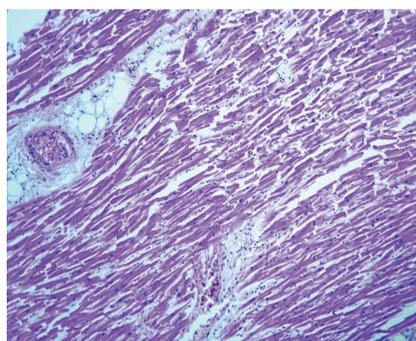
**Рисунок 2. Микроскопические признаки энцефалопатии: периваскулярный и перицеллюлярный отек головного мозга. Периваскулярно встречаются гиалиновые «шары». Явления стаза и сладжа. Выраженные дистрофические и некротические изменения нейронов. Окраска гематоксилином и эозином, ×400**

Figure 2. Microscopic signs of encephalopathy: perivascular and pericellular edema of the brain. Hyaline "balls" are found perivascularly. The phenomena of stasis and sludge. Pronounced dystrophic and necrotic changes in neurons. Hematoxylin and eosin stain, ×400



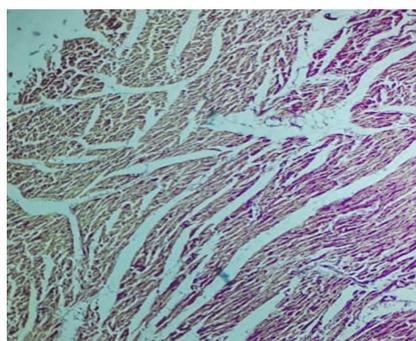
**Рисунок 3. Микроскопическая картина кардиосклероза с участками соединительной ткани и гранулами гемосидероза. Окраска гематоксилином и эозином, ×400**

Figure 3. Microscopic picture of cardiosclerosis with areas of connective tissue and granules of hemosiderosis. Hematoxylin and eosin stain, ×400



**Рисунок 4. Микроскопическая картина периваскулярных участков склероза с воспалительными инфильтратами, в сосудах — эритроцитарные сладжи. Окраска гематоксилином и эозином, ×400**

Figure 4. Microscopic picture of perivascular sites of sclerosis with inflammatory infiltrates, erythrocytic sludge in vessels. Hematoxylin and eosin stain, ×400



**Рисунок 5. Слабоположительная реакция по Ли. Окраска по Ли, ×400**

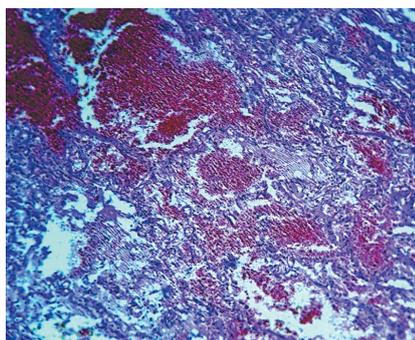
Figure 5. Low-positive reaction according to Lee. Lee painting, ×400

**Иллюстрации к статье «Патоморфологические изменения в органах при COVID-19»**

**(авторы: О.В. Воробьева, А.В. Ласточкин) (с. 587–590)**

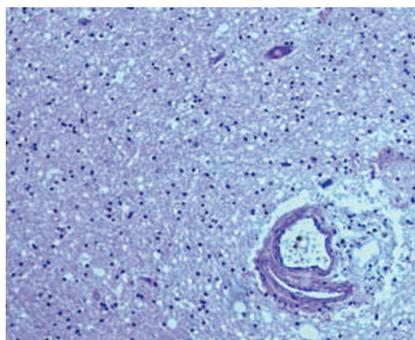
Illustrations for the article "Organ-specific pathomorphological changes during COVID-19"

(authors: Vorobeva O.V., Lastochkin A.V.) (pp. 587–590)



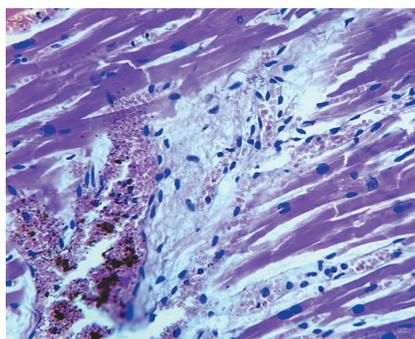
**Рисунок 1. Микроскопическая картина острой вирусной геморрагической пневмонии: инфильтрация эритроцитами легочной паренхимы с выходом форменных элементов в просвет альвеол. Участки некроза альвеолярного эпителия с обнажением базальной мембраны. Окраска гематоксилином и эозином, ×400**

Figure 1. Microscopic picture of acute viral hemorrhagic pneumonia: erythrocyte infiltration of the pulmonary parenchyma with the release of shaped elements into the lumen of the alveoli. Sites of necrosis of the alveolar epithelium with exposure of the basement membrane. Hematoxylin and eosin stain, ×400



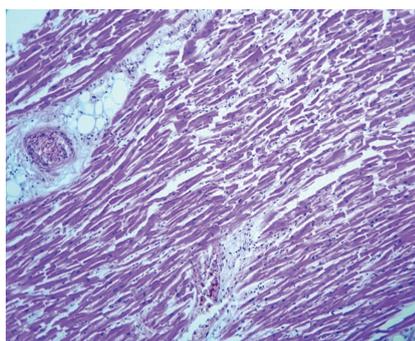
**Рисунок 2. Микроскопические признаки энцефалопатии: периваскулярный и перицеллюлярный отек головного мозга. Периваскулярно встречаются гиалиновые «шары». Явления стаза и сладжа. Выраженные дистрофические и некротические изменения нейронов. Окраска гематоксилином и эозином, ×400**

Figure 2. Microscopic signs of encephalopathy: perivascular and pericellular edema of the brain. Hyaline "balls" are found perivascularly. The phenomena of stasis and sludge. Pronounced dystrophic and necrotic changes in neurons. Hematoxylin and eosin stain, ×400



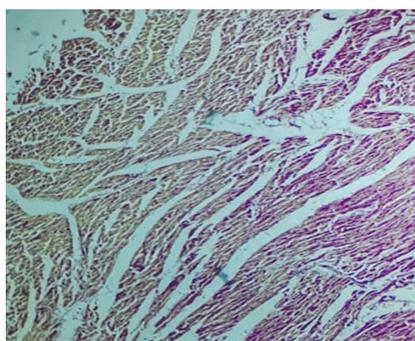
**Рисунок 3. Микроскопическая картина кардиосклероза с участками соединительной ткани и гранулами гемосидероза. Окраска гематоксилином и эозином, ×400**

Figure 3. Microscopic picture of cardiosclerosis with areas of connective tissue and granules of hemosiderosis. Hematoxylin and eosin stain, ×400



**Рисунок 4. Микроскопическая картина периваскулярных участков склероза с воспалительными инфильтратами, в сосудах — эритроцитарные сладжи. Окраска гематоксилином и эозином, ×400**

Figure 4. Microscopic picture of perivascular sites of sclerosis with inflammatory infiltrates, erythrocytic sludge in vessels. Hematoxylin and eosin stain, ×400



**Рисунок 5. Слабоположительная реакция по Ли. Окраска по Ли, ×400**

Figure 5. Low-positive reaction according to Lee. Lee painting, ×400



## РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Расширенный поиск

ГЛАВНАЯ

О ЖУРНАЛЕ

ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК

АРХИВЫ

ОБЪЯВЛЕНИЯ



Журнал является официальным изданием Российского научного общества иммунологов.

ISSN 1028-7221

Основан в 1996 г.

Периодичность: 4 раза в год

Главный редактор: академик РАН В.А. Черешнев

Включен в перечень изданий, рекомендованных ВАК для публикации научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата и

[Читать далее](#)

### ТЕКУЩИЙ ВЫПУСК

Том 23, № 1 (2020)

Скачать выпуск PDF

#### ЮБИЛЕЙ

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ С ГЛУБОЧАЙШИМ ПОЧТЕНИЕМ И БЛАГОДАРНОСТЬЮ ОТ ИМЕНИ ВСЕХ ИММУНОЛОГОВ РОССИИ И СТРАН БЫВШЕГО СОВЕТСКОГО СОЮЗА ПОЗДРАВЛЯЕТ ОСНОВОПОЛОЖНИКА ИММУНОЛОГИИ В НАШИХ СТРАНАХ РЭМА ВИКТОРОВИЧА ПЕТРОВА, БЕССМЕННОГО ПОЧЕТНОГО ПРЕЗИДЕНТА РНОИ, С ЗАМЕЧАТЕЛЬНЫМ 90-ЛЕТИЕМ ЮБИЛЕЕМ!

статья Редакционная

PDF (RUS)

7-8 2

Аннотация ▾

#### ОБЗОРЫ

##### САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 2 ТИПА – АУТОИММУННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ?

Н. С. Асфандиярова

PDF (RUS)

9-18 13

Аннотация ▾

##### ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ АКНЕ

А. Г. Румянцев, О. М. Демина, Е. В. Райкина

PDF (RUS)

19-26 7

Аннотация ▾



Отправить статью

[Правила для авторов](#)

[Редакционная коллегия](#)

[Редакционный совет](#)

[Рецензирование](#)

[Этика публикаций](#)



#### ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ГОЛОГО ЗЕМЛЕКОПА

Том 22, № 1 (2019)

ТСR-МУТАЦИИ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИММУННЫЙ СТАТУС У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ, В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ

Том 22, № 1 (2019)

ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ, Poly(I:C), ДАЛАРГИНА НА ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВАКЦИННОГО ШТАММА YERSINIA PESTIS EV НИИЭГ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧУМЕ

Том 23, № 1 (2020)

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 2 ТИПА – АУТОИММУННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ?

Том 23, № 1 (2020)

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА СМЕРТИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Том 21, № 1 (2018)

- Электронная редакция
- Подача статей online
- Проверка рукописей на АНТИПЛАГИАТ

- Online-версия журнала
- DOI для каждой публикации
- Весь архив в PDF-формате
- Поиск статей по ключевым словам, авторам, заглавиям

«Российский иммунологический журнал» 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», а также в базу Russian Science Citation Index (RSCI), полностью интегрированную с платформой Web of Science

**Подписной индекс:**  
Роспечать – 95001  
Пресса России – 41392

