

2022

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

15 сентября 1922 года
День образования государственной
санитарно-эпидемиологической службы России



ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

январь–февраль

2022, том 12

№ 1

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

Главный редактор

Тотоян Арег А. д.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, зав. лабораторией нейродегенерации Института Пастера, Монтевидео, Уругвай
Брей П. д.б.н., профессор, зав. лабораторией медицинской энтомологии и биологии переносчиков болезней Института Пастера в Лаосе, 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
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, научный руководитель ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия
Лоузир Э. профессор, президент 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
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, зав. отделом инфекционной микробиологии Института микробиологии им. Стефана Ангелюфа, София, Болгария
Онищенко Г.Г. д.м.н., профессор, академик РАН, зам. председателя Российской академии образования, 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
Хаитов Р.М. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия
Черешнев В.А. д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель Института иммунологии и физиологии, Екатеринбург, Россия
Шпигель А. д.м.н., профессор, директор Института Пастера Мадагаскара, Антананариву, Мадагаскар

Редакционный совет

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

Ответственный секретарь: 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 и www.elibrary.ru

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

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

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

С 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

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

Подписано в печать 28.02.2022 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 25.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1047

© Инфекция и иммунитет
© Северо-Западное отделение медицинских наук, 2022
© НИИЭМ имени Пастера, 2022
© СПб РО РААКИ, 2022

Russian Journal of Infection and Immunity (Infektsiya i immunitet)

January–February

2022, volume 12

No. 1

The journal is published with the assistance of the Branch of All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists for St. Petersburg and Leningrad Region

Editor-in-chief

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

Deputy editor-in-chief

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

Members of editorial board

Alexander S. Apt PhD, MD (Biology), Professor, Central Research Institute of Tuberculosis, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Moscow, Russian Federation

Luis Barbeito PhD, MD (Medicine), Professor, Institute Pasteur de Montevideo, Head of the Laboratory of Neurodegeneration, 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

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, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation

Hechmi Louzir Professor, Institute Pasteur de Tunis, President, 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

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; Head of the Department of Infectious Microbiology, Sofia, Bulgaria

Gennadiy G. Onishchenko PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Deputy President of the Russian Academy of Education, Moscow, Russian Federation

Vadim V. Pokrovskiy PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, 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

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

Assistant editor: 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 and www.elibrary.ru

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

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

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

Since 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

Produced at the Allegro Printing House

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

Passed for printing 28.02.2022. Print format 60 x 90 1/8.
Offset printing. Printed sheets 25.
Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies).

© Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet

© North-West Regional Branch of Medical Sciences, 2022

© St. Petersburg Pasteur Institute, 2022

© SPb RAACI, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Волков А.А., Долгова А.С., Дедков В.Г.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПЛАТФОРМЫ, СОЗДАННЫЕ НА БАЗЕ СИСТЕМ CRISPR/Cas 9

Сергеева А.В., Шкарин В.В., Ковалишена О.В.

РОЛЬ *HELICOBACTER PYLORI* В КОМПЛЕКСНОЙ КОМОРБИДНОСТИ ЧЕЛОВЕКА 21

Бурова Л.А., Тотолян Артем А.

ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ *STREPTOCOCCUS PYOGENES* 33

Бажутова И.В., Исмагуллин Д.Д., Лямин А.В., Трунин Д.А., Жестков А.В., Разумный В.А.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *STREPTOCOCCUS* ПРИ РАЗВИТИИ ПАРОДОНТИТА 51

Оригинальные статьи

Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА, ВЫДЕЛЕННЫХ У РЕЦИПИЕНТОВ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ 59

Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н., Дробот Е.И., Рязанова О.С., Матосова Е.В., Бынина М.П., Тимченко Н.Ф.

ПАТОМОРФОЛОГИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ШТАММАМИ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*, НАХОДИВШИМИСЯ В ДОРМАНТНОМ СОСТОЯНИИ 69

Аайнус А., Момен Г., Белгити А., Беннани К., Ламаамал А., Шетиуи Ф., Мессауди М., Благен М., Муслим Д., Кьятти М., Эль Мессауди М.Д.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ GeneXpert MTB/RIF В ДИАГНОСТИКЕ ВНЕЛЕГЧНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА В МАРОККО 78

Чехляева Т.С., Цвиркун О.В., Тураева Н.В., Ерохов Д.В., Баркинхоева Л.А., Тихонова Н.Т.

ОЦЕНКА СТАТУСА ЭЛИМИНАЦИИ КРАСНУХИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2019 г. 85

Портенко С.А., Казакова Е.С., Найденова Е.В., Осина Н.А., Проскуракова М.В., Катышев А.Д., Шаркова Е.А., Кедрова О.В., Чумачкова Е.А., Шамьюнов М.Р., Харитонов В.Ф., Гурьева Л.А., Попова Н.Ю., Максимова Л.В., Бугоркова С.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ 95

Лаврентьева И.Н., Хоанг М., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Тотолян Арег А.

ВЫЯВЛЕНИЕ СЛУЧАЕВ КОРИ ВО ВЬЕТНАМЕ В ПЕРИОД РАСПРОСТРАНЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ 105

Смирнова О.В., Цуканов В.В., Синяков А.А., Елманова Н.Г., Москаленко О.Л., Овчаренко Е.С.

КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА РАННЕГО РАКА ЖЕЛУДКА, АССОЦИИРОВАННОГО С ИНФЕКЦИЕЙ *HELICOBACTER PYLORI*, У ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ 113

Шперлинг М.И., Шперлинг Е.А., Ковалев А.В., Власов А.А., Поляков А.С., Носков Я.А., Морозов А.Д., Мерзляков В.С., Звягинцев Д.П., Тишко В.В.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МОНОЦИТОЗА ПРИ ЛЕЧЕНИИ СРЕДНЕТЕЖЕЛЫХ ФОРМ COVID-19 120

Кривицкая В.З., Кузнецова Е.В., Майорова В.Г., Петрова Е.Р., Соминина А.А., Даниленко Д.М.

ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ГРИППА НА УРОВЕНЬ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ЗДОРОВЫХ ЛИЦ 127

Исакова-Сивак И.Н., Степанова Е.А., Руденко Л.Г., Бартов М.С., Выжлова Е.Н., Малиновская В.В.

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ВИФЕРОН® В ФОРМЕ СУППОЗИТОРИЕВ РЕКТАЛЬНЫХ *IN VITRO* В ОТНОШЕНИИ SARS-CoV-2 142

Барило А.А., Смирнова С.В.

ГРИБКОВАЯ АЛЛЕРГИЯ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ И ПСОРИАЗОМ 149

Краткие сообщения

Вакин В.С., Амосова И.В., Войцеховская Е.М., Тимошичева Т.А., Васильева А.А., Позднякова М.Г., Лялина Л.В., Марченко В.А., Никоноров И.Ю., Грудинин М.П.

АНАЛИЗ ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИННОГО ШТАММА ВИРУСА ГРИППА А(Н1N1)pdm09 В ПАНДЕМИЮ И ПОСТПАНДЕМИЧЕСКИЙ ПЕРИОД (2009–2014 гг.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА 158

Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Чудайкин А.Н., Солдатова А.А., Мосина Л.М., Костина Ю.А., Солодовникова Г.А.

ИЗМЕНЕНИЯ ВАСКУЛОЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ПРИ HELICOBACTER PYLORI-АССОЦИИРОВАННЫХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ 165

Рыбка А.Г.

ДИСБАЛАНС ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ ОРГАНИЗМА, ИНФЕКЦИЯ И ФАКТОРЫ МУТАГЕНЕЗА В ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРИРОДНО-ОЧАГОВОГО ФАКТОРА СРЕДЫ ОБИТАНИЯ – ИНВАЗИИ ТРЕМАТОДЫ OPISTHORCHIS FELINEUS 172

Барышникова Д.В., Мордык А.В., Пузырева Л.В.

ВАРИАНТЫ ЦИТОПЕНИИ У ЛЮДЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ СТАДИЯМИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ 179

Захватова А.С., Дарьина М.Г., Светличная Ю.С., Зуева Л.П., Асланов Б.И., Червякова М.А.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ АНТИМИКРОБНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ КРОВОТОКА 185

Очиров О.С., Бурасова Е.Г., Стельмах С.А., Григорьева М.Н., Окладникова В.О., Могнонов Д.М.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА ГИДРОХЛОРИДА ПО ОТНОШЕНИЮ К МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНЫМ ШТАММАМ МИКРООРГАНИЗМОВ 193

Правила для авторов 197

Авторский указатель 200

Предметный указатель 200

CONTENTS

Reviews

Volkov A.A., Dolgova A.S., Dedkov V.G.

CRISPR/Cas-BASED DIAGNOSTIC PLATFORMS 9

Sergeeva A.V., Shkarin V.V., Kovalishena O.V.

THE ROLE OF *HELICOBACTER PYLORI* IN COMPLEX HUMAN COMORBIDITY 21

Burova L.A., Totolian Artem A.

MAJOR PATHOGENICITY FACTORS OF *STREPTOCOCCUS PYOGENES* 33

Bazhutova I.V., Ismatullin D.D., Lyamin A.V., Trunin D.A., Zhestkov A.V., Razumnyj V.A.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF *STREPTOCOCCUS* MEMBERS IN DEVELOPING PERIODONTITIS 51

Original articles

Vankova O.E., Brusnigina N.F.

GENOTYPING CLINICAL CYTOMEGALOVIRUS ISOLATES IN SOLID-ORGANS-TRANSPLANT RECIPIENTS 59

Somova L.M., Andryukov B.G., Lyapun I.N., Drobot E.I., Ryazanova O.S., Matosova E.V., Bynina M.P., Timchenko N.F.

PATHOMORPHOLOGY OF EXPERIMENTAL INFECTION CAUSED BY DORMANT *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* STRAINS 69

Aainouss A., Momen G., Belghiti A., Bennani K., Lamaammal A., Chetioui F., Messaoudi M., Blaghen M., Mouslim J., Khyatti M., El Messaoudi M.D.

PERFORMANCE OF GeneXpert MTB/RIF IN THE DIAGNOSIS OF EXTRAPULMONARY TUBERCULOSIS IN MOROCCO 78

Chekhlyayeva T.S., Tsvirkun O.V., Turaeva N.V., Erokhov D.V., Barkinkhoeva L.A., Tikhonova N.T.

ASSESSING THE 2019 RUBELLA ELIMINATION STATUS IN THE RUSSIAN FEDERATION 85

Portenko S.A., Kazakova E.S., Naidenova E.V., Osina N.A., Proskuriakova M.V., Katyshev A.D., Sharkova E.A., Kedrova O.V., Chumachkova E.A., Shamyunov M.R., Kharitonova V.F., Gureva L.A., Popova N.Yu., Maksimova L.V., Bugorkova S.A., Scherbakova S.A., Kutyrev V.V.

ETIOLOGICAL PATTERN OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA RELATED TO THE NEW CORONAVIRUS INFECTION COVID-19 PANDEMIC IN THE SARATOV REGION 95

Lavrentieva I.N., Hoang M., Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Totolian Areg A.

REVEALING MEASLES CASES IN VIETNAM DURING THE SPREAD OF A NEW CORONAVIRUS INFECTION 105

Smirnova O.V., Tsukanov V.V., Sinyakov A.A., Elmanova N.G., Moskalenko O.L., Ovcharenko E.S.

A COMPLEX DIAGNOSTICS OF EARLY GASTRIC CANCER ASSOCIATED WITH *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION IN THE ADULT POPULATION OF THE KRASNOYARSK TERRITORY 113

Shperling M.I., Shperling E.A., Kovalev A.V., Vlasov A.A., Polyakov A.S., Noskov Ya.A., Morozov A.D., Merzlyakov V.S., Zvyagintsev D.P., Tishko V.V.

A DIFFERENTIAL AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF MONOCYTOSIS IN TREATMENT OF MODERATE COVID-19 FORMS 120

Krivitskaya V.Z., Kuznetsova E.V., Maiorova V.G., Petrova E.R., Sominina A.A., Danilenko D.M.

INFLUENZA VACCINATION INFLUENCING LEVEL OF SPECIFIC HUMORAL IMMUNITY IN HEALTHY INDIVIDUALS 127

Isakova-Sivak I.N., Stepanova E.A., Rudenko L.G., Bartov M.S., Vyzhlova E.N., Malinovskaya V.V.

IN VITRO ANTIVIRAL ACTIVITY OF VIFERON® RECTAL SUPPOSITORIES AGAINST SARS-CoV-2 142

Barilo A.A., Smirnova S.V.

FUNGAL ALLERGIES IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS AND PSORIASIS 149

Short communications

Vakin V.S., Amosova I.V., Voitsekhovskaya E.M., Timoshicheva T.A., Vasileva A.A., Pozdnyakova M.G., Lyalina L.V., Marchenko V.A., Nikonorov I.Yu., Grudinin M.P.

IMMUNOGRAPH-BASED ANALYSIS OF THE INFLUENZA A(H1N1)pdm09 VACCINE STRAIN IMMUNOGENICITY IN THE PANDEMIC AND POST-PANDEMIC PERIOD (2009–2014) 158

Matveeva L.V., Kapkaeva R.H., Chudaikin A.N., Soldatova A.A., Mosina L.M., Kostina Yu.A., Solodovnikova G.A.

CHANGES IN VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR LEVEL IN *HELICOBACTER PYLORI*-ASSOCIATED GASTRODUODENAL DISEASES 165

Rybka A.G.

IMBALANCED IMMUNOBIOLOGICAL REACTIVITY, INFECTION AND MUTAGENESIS FACTORS IN THE HEPATOBILIARY SYSTEM AFFECTED BY A NATURAL FOCAL HABITAT FACTOR — A TREMATODE INVASION BY *OPISTHORCHIS FELINEUS* 172

Baryshnikova D.V., Mordyk A.V., Puzyreva L.V.

HUMAN CYTOPENIA VARIANTS AT DIVERSE HIV INFECTION STAGES 179

Zakhvatova A.S., Daryina M.G., Svetlichnaya Y.S., Zueva L.P., Aslanov B.I., Chervyakova M.A.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE MONITORING OF POTENTIAL PATHOGENS CAUSING BLOODSTREAM INFECTIONS 185

Ochirov O.S., Burasova E.G., Stelmakh S.A., Grigor'eva M.N., Okladnikova V.O., Mognonov D.M.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF POLYHEXAMETHYLENE GUANIDINE HYDROCHLORIDE DERIVATIVES AGAINST MULTI-RESISTANT MICROBIAL STRAINS 193

Instructions to Authors 197

Author index 200

Subject index 200

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПЛАТФОРМЫ, СОЗДАННЫЕ НА БАЗЕ СИСТЕМ CRISPR/Cas

А.А. Волков, А.С. Долгова, В.Г. Дедков

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

Резюме. Последние несколько лет системы CRISPR/Cas активно исследуются и используются для широкого спектра прикладных задач. Многообразие вариантов их применения обусловлено способностью нуклеаз типа Cas направленно расщеплять заданные последовательности нуклеиновых кислот. При этом исследователь может задавать необходимую последовательность направляющих элементов системы, в роли которых выступают так называемые единые гидовые РНК, что позволяет системе воздействовать на определенные мишени. Такое свойство и стало одной из причин интереса к системам CRISPR/Cas. Одним из первых направлений применения данных систем было использование их для геномного редактирования. В дальнейшем список потенциальных возможностей расширился: например, CRISPR/Cas можно задействовать в генотерапии и эпигенетических исследованиях. Из единых гидовых РНК могут быть составлены библиотеки, выступающие основой для создания вирусных векторов с последующим трансдуцированием бактериальных клеток и нокаутингом указанных мишеней при помощи cas-белков. Такой подход позволяет осуществлять поиск бактериальных генов, ответственных за устойчивость или чувствительность к различным препаратам. Использование этих систем в молекулярной диагностике инфекционных заболеваний считается одним из наиболее многообещающих направлений. Диагностика при помощи CRISPR/Cas позволяет обнаруживать в образцах даже небольшие концентрации патогенных организмов за счет детекции их нуклеотидных последовательностей. При этом такие анализы оказываются точными, быстрыми и несложными в применении, а для функционирования ряда платформ даже не требуется дорогостоящее оборудование, поскольку уже разработаны методы быстрой и простой пробоподготовки, а современные подходы преамплификации позволяют уйти от использования термоциклических аппаратов. Примечательно, что уже открыто огромное число естественных систем CRISPR/Cas различных типов. Такое изобилие способствует разработке разнообразных искусственных систем, каждая из которых обладает своими особенными характеристиками. На их базе создается множество диагностических платформ, различающихся по свойствам, что позволяет исследователям и медицинским работникам подбирать наилучший метод для решения определенных задач. Для выбора подходящей платформы важно иметь представление об устройстве и функционировании систем CRISPR/Cas, а следовательно, необходима актуальная классификация систем, на базе которой, в свою очередь, уже удобно оценивать само многообразие платформ молекулярной диагностики и представлять типовые характеристики и нюансы устройства для каждого метода. Таким образом, данный обзор, посвященный преимущественно платформам молекулярной диагностики инфекционных заболеваний, также затрагивает вопросы функционирования, устройств и классификации систем CRISPR/Cas.

Ключевые слова: CRISPR/Cas, молекулярная диагностика, Cas12, Cas13, изотермическая амплификация.

Адрес для переписки:

Волков Артемий Андреевич
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера.
Тел.: 8 921 361-73-09.
E-mail: volkov.art.andr@gmail.com

Contacts:

Artemii A. Volkov
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 921 361-73-09.
E-mail: volkov.art.andr@gmail.com

Для цитирования:

Волков А.А., Долгова А.С., Дедков В.Г. Молекулярные диагностические платформы, созданные на базе систем CRISPR/Cas // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 9–20. doi: 10.15789/2220-7619-CCB-1843

Citation:

Volkov A.A., Dolgova A.S., Dedkov V.G. CRISPR/Cas-based diagnostic platforms // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 9–20. doi: 10.15789/2220-7619-CCB-1843

CRISPR/Cas-BASED DIAGNOSTIC PLATFORMS

Volkov A.A., Dolgova A.S., Dedkov V.G.

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

Abstract. Over the last few years, CRISPR/Cas systems have been extensively studied and used for a wide range of applied purposes. The variety of their applications is accounted for by the ability of Cas-type nucleases to targetly cleave specified nucleic acid sequences. In this case, the researcher might set the necessary sequence of the guiding elements in the CRISPR/Cas system, played by so-called single guide RNAs allowing it to act on select targets. This potential underlies one of the reasons for exerting interest in CRISPR/Cas systems. One of the first areas for applying these systems was its use for genomic editing. Later, the list of potential opportunities has been expanded: e.g., they can be used in gene therapy and epigenetic research. It is possible to create sgRNA libraries which might be used to create a pool of viral vectors applied for bacterial cell transformation with subsequent cas-protein transduction that cause target gene knockout. This approach allows finding genes responsible for resistance or sensibility to diverse substances. Using such systems in molecular diagnostics of infectious diseases is considered as one of the most promising directions allowing to detect even extremely low concentrations of pathogenic organisms in samples due to their specific nucleotide sequences. Simultaneously, such assays turn out to be accurate, rapid and easy to utilize. In addition, some platforms may work without using expensive equipment, because methods for fast and simple sample preparation have already been developed, whereas modern pre-amplification approaches allow to avoid applying thermocycling devices. Interestingly, a great amount of diverse types of natural CRISPR/Cas systems have been already discovered. Such abundance promotes development of multiple artificial systems, each of which exerting own unique characteristics. Therefore, a variety of diagnostic platforms with different properties are created on their basis that allows researchers and physicians to choose an optimal approach for performing specific tasks. For this reason, insights into structure and operation of CRISPR/Cas systems are necessary for selecting a suitable platform. The current classification of systems is based on such principles serving as the basis, in turn, for convenient evaluation of the very variety of molecular diagnostics platforms and presentation of the typical technical characteristics and nuances for each method. Thus, this review, which is mainly devoted to the platforms for molecular diagnostics of infectious diseases, also touches upon the issues of functioning, devices, and classification of CRISPR/Cas systems.

Key words: CRISPR/Cas, molecular diagnostics, Cas12, Cas13, isothermal amplification.

Введение

Системы CRISPR/Cas уже довольно давно известны и применяются в разнообразных целях. Исходно они были обнаружены у бактерий, у которых они участвуют в иммунном ответе. Позднее системы также были выявлены у других микроорганизмов [18].

В основе таких систем — локус CRISPR, открытый еще в 1987 г. [20]. Это кластер коротких повторов ДНК, разделенных одинаково короткими некодирующими последовательностями фагового и плазмидного происхождения — спейсерами. С локусом CRISPR, в свою очередь, связаны cas-гены (CRISPR-ассоциированные). При первом контакте с чужеродной нуклеотидной последовательностью запускается процесс формирования CRISPR-опосредованного иммунитета: вирусная ДНК неспецифически разрезается, далее полученные спейсерные последовательности захватываются и интегрируются в первую позицию локуса CRISPR за счет белков так называемого адаптационного модуля — Cas1 и Cas2. При этом сама транскрипция локуса происходит постоянно, но с низкой скоростью. Попадание в клетку чужеродной ДНК является триггером, усиливающим эту транскрипцию. Осуществляемая при этом транскрипция спейсерных участков в итоге приводит

к образованию небольших РНК. Если чужеродная последовательность оказывается комплементарной этим РНК, то они действуют как антисмысловые направляющие для нуклеаз, которые обнаруживают и расщепляют последовательность-мишень в геноме вируса [36, 45].

Именно эта способность РНК с определенной последовательностью направлять нуклеазы на мишень интересна с практической точки зрения. На основе данного принципа создаются искусственные CRISPR/Cas-системы, для которых исследователи могут задавать требуемую последовательность РНК, тем самым осуществляя взаимодействие нуклеазы с желаемыми мишенями. Одна из первых работ, показавшая возможность использования искусственных систем CRISPR/Cas, была опубликована в 2012 г. [45]. Вслед за ней появилось множество других исследований, была показана применимость искусственных систем на множестве организмов, например на бактериях [21], на дрожжах [35] и на клетках млекопитающих [11].

Возвращаясь к устройству системы, стоит отметить, что в искусственных вариантах CRISPR/Cas можно выделить две основные части, наиболее важные для исследователя. Первая включает в себя одну или несколько нуклеаз, непосредственно осуществляющих связывание и расщепление мишени. Вторая

представляет собой последовательность РНК, которая ориентирует нуклеазу на мишень. При этом используется две РНК: одна требуется непосредственно для взаимодействия с мишенью, которой она комплементарна. Эта последовательность носит название крРНК (КРИСПР-РНК). Вторая же последовательность, необходимая для связи крРНК с нуклеазой, то есть для образования рибонуклеопротеина (РНП), называется транскриптивной крРНК, или же тракрРНК. В искусственных CRISPR/Cas-системах для удобства обе РНК могут быть сшиты в одну молекулу — в единую гидовую РНК (егРНК). Итак, две составные части егРНК: спейсер — участок, комплементарный мишени, и петля для взаимодействия с нуклеазой [13]. В большинстве систем CRISPR/Cas требуется наличие в ДНК-мишени участка PAM (protospacer adjacent motif — смежный с протоспейсером мотив). Эта небольшая последовательность располагается на целевой ДНК и распознается нуклеазой. Данный участок находится рядом с протоспейсером — последовательностью, с которой взаимодействует спейсерная последовательность егРНК. В ДНК бактерий PAM отсутствуют, предполагается, что это обеспечивает защиту собственных нуклеотидных последовательностей от расщепления CRISPR/Cas-системой. Следовательно, если PAM будет отсутствовать и в целевых последовательностях, то система не сможет распознать мишень [14].

Итак, вышеперечисленные характеристики делают из CRISPR/Cas крайне удобный инструмент для манипуляций с последовательностями нуклеиновых кислот. Исследователь может подобрать необходимую последовательность егРНК, что позволит ему вносить разрыв в желаемый участок мишени при помощи нуклеазы. Неудивительно, что было найдено множество применений данным системам. Ныне они широко используются не только для геномного редактирования, но и для других целей. Их используют в генотерапии и эпигенетических исследованиях. Из егРНК могут быть составлены библиотеки, которые далее служат основой для создания вирусных векторов с последующим трансдуцированием бактериальных клеток и нокаутингом указанных мишеней при помощи cas-белков. Этот подход используется для поиска бактериальных генов, ответственных за устойчивость или чувствительность к различным препаратам.

В последнее время интерес вызывает использование таких систем для диагностики. Разработанные платформы позволяют детектировать наличие в образцах тех или иных нуклеотидных последовательностей, принадлежащих, например, вирусам. Многие способы

такой диагностики не уступают по точности методам, основанным на ПЦР, скорость же проведения анализа может быть и выше. При этом указывается возможность использования данных подходов в полевых условиях. Допускается мультиплексная диагностика, то есть имеется возможность выявлять несколько мишеней в одной реакционной смеси [27].

Таким образом, актуальность подобного применения систем CRISPR/Cas не представляет сомнений. В связи с этим в настоящем обзоре будет рассмотрен ряд наиболее известных и перспективных платформ молекулярной диагностики.

Разнообразие систем CRISPR/Cas

Для более быстрого и точного понимания механизмов работы диагностических платформ стоит помнить об основах актуальной классификации естественных систем CRISPR/Cas, на многообразии которых рассматриваемые платформы базируются. Составляющие естественные системы CRISPR/Cas белки объединяют в отдельные функциональные модули. Различным составом данных модулей и происхождением их содержимого обуславливается многообразие систем CRISPR/Cas. Именно по принципу наличия или отсутствия тех или иных cas-генов, структуры cas-оперона и устройства белков строят классификации [10, 47].

Основными модулями являются адаптационный и эффекторный. Адаптационный, как уже упоминалось выше, нужен для внедрения новых спейсеров в массив CRISPR. Обычно он состоит из белков Cas1 и Cas2. Эффекторный модуль содержит одну или несколько нуклеаз и ответственен за распознавание и расщепление мишени. Также могут существовать элементы, обеспечивающие процессинг РНК. Для некоторых систем отмечают наличие вспомогательных белков и участников сигнальной трансдукции [26]. Существует несколько вариантов классификации систем CRISPR-Cas. По последним данным, их можно разделить на два больших класса. Такой вариант классификации получил распространение после 2015 г. [33].

Ключевой особенностью систем первого класса является наличие мультисубъединичных эффекторных комплексов, состоящих из 4–7 белков cas. Представители этого класса широко распространены у архей и бактерий, к нему относят 90% всех идентифицированных локусов CRISPR. Первый класс включает типы I, III и IV. Между собой типы систем CRISPR/Cas различаются по белковому составу модулей [2]. Для эффекторных модулей систем первого класса характерно наличие общих белков: Cas7, Cas5. Эти белки выполняют функцию рас-

познавания мишени. Остальные компоненты могут отличаться. Например, в системе I типа расщепляющей активностью обладает Cas3, а в системе III типа такую активность проявляет Cas10 [19]. Системы IV типа изучены меньше, для них характерно наличие уникального небольшого белка Cas8. Интересно отметить, что для них также свойственно отсутствие белков адаптационного модуля, что принципиально отличает их от прочих типов. При этом не описывается наличие РАМ, который связан с работой этого модуля. Предполагается, что в таком случае могут задействоваться Cas1 и Cas2 из других систем, сосуществующих в клетке с данной [41].

В системах второго класса в качестве эффектора выступает единственный мультидоменный белок. По этой причине такие системы представляют наибольший интерес при практическом использовании. Они обнаруживаются преимущественно у бактерий [19, 26]. Второй класс включает типы II, V, VI. Ко II типу относят системы с известной нуклеазой Cas9 в качестве эффектора. Для систем V типа характерны нуклеазы Cas12, Cas14 и ряд других. Эти нуклеазы хоть и родственны Cas9, но имеют существенные структурные отличия и требуют иной формы еРНК для образования комплекса. Системы VI типа с эффекторным белком Cas13 интересны тем, что их мишенью является оцРНК, тогда как для большинства cas-нуклеаз иных типов характерно взаимодействие с ДНК [19]. Такое отличие обеспечивается наличием у Cas13 двух доменов HEPN (Higher Eukaryotes and Prokaryotes Nucleotide-binding), способных связывать РНК. У эффекторных белков II и V типов при этом имеются домены RuvC, расщепляющие ДНК. Cas9 также содержит эндонуклеазный HNH, получивший свое название из-за наличия остатков аспарагина и гистидина [29, 39, 50]. Крайне примечательной особенностью систем V и VI типов является способность нуклеаз проводить не только цис-расщепление мишени, но и осуществление неспецифической транс-активности. Такое явление называется коллатеральным эффектом [47].

Хотя основа классификации — два класса, содержащих по три типа — пока принципиально не меняется, постоянно появляются новые сведения, позволяющие дополнять ее и выделять отдельные подтипы внутри установленных типов. Было выявлено свыше 33 подтипов [34]. Особенно большое количество подтипов наблюдается среди систем V типа. А обнаружение у нуклеазы Cas12g рибонуклеазной активности делает взаимодействие с РНК прерогативой не только эффекторов VI типа [32].

На основе дополнительных сигнатурных генов и их расположения можно выделять под-

типы, например, следующим образом: в первом классе тип I подразделяется на подтипы А–Е, F1–F3, тип III состоит из подтипов А–F, а тип IV — из подтипов А–С. Во втором классе тип II подразделяется на подтипы А, В, С1–С2, тип V — на подтипы А, В1–В2, С–Е, F1–F3, G, U1–U5, тип VI содержит подтипы А, В1–В2, С, D [6, 34, 44]. Таким образом, существует множество типов естественных систем CRISPR/Cas. Подобное изобилие служит источником для разработки и создания систем искусственных. В практическом применении при создании платформ диагностики это позволяет оптимально подобрать в качестве исходной основы тот или иной тип CRISPR/Cas, удовлетворяющий поставленным задачам и выдвигаемым для них требованиям.

Диагностические платформы на основе CRISPR/Cas

Итак, как было указано выше, существует великое множество вариантов систем CRISPR/Cas. Системы второго класса с единственным эффекторным белком оказываются наиболее удобными при практическом применении. Благодаря этому на их основе уже создано большое количество диагностических платформ, характеризующихся применением различных белков, их ортологов и модификаций, разнообразными способами преамплификации и анализа получаемых результатов, что обеспечивает разные уровни чувствительности этих платформ — платформы и их характеристики представлены в табл. [23].

Платформы диагностики на основе систем CRISPR/Cas II типа

NASBACC (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification CRISPR-Cas Cleavage — CRISPR/Cas-опосредованное расщепление продуктов реакции транскрипционной амплификации) — один из ранних методов CRISPR/Cas-диагностики. Его особенность заключается в том, что при работе кДНК используется специфический для последовательности праймер, к которому присоединена триггерная последовательность, распознаваемая сенсором. Образуется РНК/ДНК-гибрид, РНК элиминируется РНКазой, что позволяет праймеру, содержащему T7-промотор, связываться, создавая тем самым комплементарную вторую цепь ДНК. T7-транскрипция двунитевой ДНК создает последовательность целевой РНК, которая может быть или использована в качестве стартового материала для нового цикла NASBA, или распознана сенсором. Если последовательность РАМ представлена в дцДНК ампликоне, то Cas9-опосредованное расщепление приво-

Таблица. Многообразие платформ молекулярной диагностики на основе CRISPR/Cas

Table. Variety of molecular diagnostic platforms based on CRISPR/Cas

Платформа Platform	Белок- эффектор Effector protein	Метод амплификации Amplification method	Метод анализа результатов Assay readout	Предел детекции на мл LOD per ml	Предел детекции моль/л LOD mol/L
CRISPR/Cas II типа CRISPR/Cas type II					
NASBACC	Cas9	NASBA	Колориметрия Colorimetry	6 × 10 ⁶ копий 6 × 10 ⁶ copies	1 × 10 ⁻¹⁵
CRISPR-Chip	Cas9	Не применяется Not used	Электрохимический Electrochemical	1,4 × 10 ⁶ копий 1.4 × 10 ⁶ copies	2,3 × 10 ⁻¹⁵
CRISDA	Cas9-никаза Cas9 nickase	SDA	Флуоресценция Fluorescence	1,5 × 10 ² копий 1.5 × 10 ² copies	2,5 × 10 ⁻¹⁹
FLASH	Cas9	PCR	Секвенирование нового поколения NGS	1,1 × 10 ³ копий 1.1 × 10 ³ copies	1,9 × 10 ⁻¹⁸
CAS-EXPAR	Cas9	EXPAR	Флуоресценция Fluorescence	4,9 × 10 ² копий 4.9 × 10 ² copies	8,2 × 10 ⁻¹⁸
Cas9nAR	Cas9-никаза Cas9 nickase	При помощи никазы By nickase	Флуоресценция Fluorescence	10 ² копий 10 ² copies	1,7 × 10 ⁻¹⁹
CRISPR/Cas V типа CRISPR/Cas type V					
DETECTR	Cas12a	RPA	Флуоресценция/ иммунохроматография Fluorescence/ immunochromatography	6 × 10 ² копий 6 × 10 ² copies	1 × 10 ⁻¹⁸
Cas14-DETECTR	Cas14	PCR	Флуоресценция Fluorescence	6 × 10 ³ копий 6 × 10 ³ copies	–
HOLMES	Cas12a	PCR	Флуоресценция Fluorescence	6,6 × 10 ³ копий 6.6 × 10 ³ copies	1 × 10 ⁻¹⁷
HOLMESv2	Cas12b	LAMP	Флуоресценция Fluorescence	6 × 10 ³ копий 6 × 10 ³ copies	1 × 10 ⁻¹⁷
CDetection	Cas12b	RPA	Флуоресценция Fluorescence	6 × 10 ² копий 6 × 10 ² copies	1 × 10 ⁻¹⁸
E-CRISPR	Cas12a	Не применяется Not used	Электрохимический Electrochemical	3 × 10 ¹⁰ копий 3 × 10 ¹⁰ copies	5 × 10 ⁻¹¹
STOPCovid	Cas12b	LAMP	Флуоресценция/ иммунохроматография Fluorescence/ immunochromatography	2 × 10 ³ копий 2 × 10 ³ copies	3,3 × 10 ⁻¹⁸
CRISPR/Cas VI типа CRISPR/Cas type VI					
SHERLOCK	Cas13	NASBA/RPA	Флуоресценция/ иммунохроматография Fluorescence/ immunochromatography	1,2 × 10 ³ копий 1.2 × 10 ³ copies	2 × 10 ⁻¹⁸
SHERLOCKv2	Cas13	RPA	Флуоресценция/ иммунохроматография Fluorescence/ immunochromatography	4,8 копий 4.8 copies	8 × 10 ⁻²¹
HUDSON	Cas13	RPA	Флуоресценция/колориметрия Fluorescence/colorimetry	4,5 × 10 ⁴ копий 4.5 × 10 ⁴ copies	–
SHINE	Cas13	RPA	Флуоресценция/ иммунохроматография Fluorescence/ immunochromatography	5 × 10 ³ копий 5 × 10 ³ copies	8,3 × 10 ⁻¹⁸
CARMEN	Cas13	PCR/RPA	Флуоресценция Fluorescence	5,4 × 10 ² копий 5.4 × 10 ² copies	9 × 10 ⁻¹⁹
APC-Cas	Cas13	При помощи аллостерического зонда By allosteric probe	Флуоресценция Fluorescence	1 КОЕ 1 CFU	–
PECL-CRISPR	Cas13	EXPAR	Электрохемилюминесценция Electrochemiluminescence	6 × 10 ⁵ копий 6 × 10 ⁵ copies	1 × 10 ⁻¹⁵

дит к появлению укороченной матрицы для T7-транскрипции. Это, в свою очередь, приводит к образованию короткой РНК-мишени, которая неспособна активировать сенсор. В отсутствии же РАМ-последовательности не происходит разрезания дцДНК. В результате транскрибируется полноразмерная РНК-мишень, содержащая триггер. С последним взаимодействует сенсор, который меняет свою конформацию, что позволяет рибосоме связываться с ним и осуществлять трансляцию репортерной последовательности. Вследствие этого регистрируется флуоресценция [23].

Данный метод хоть и заявлен как недорогой и быстрый, но все же требует больше времени на проведение, чем другие подходы. Также для него характерна не самая высокая чувствительность [48].

CRISPR-Chip оказалась одной из интересных технологий в области детекции, примечательной использованием физического явления электропроводности. Примечательным является то, что данный метод не только требует небольших временных затрат, но и может осуществляться без преамплификации. В платформе задействуется «мертвый» белок, dCas9, способный связывать последовательности мишени, но лишенный возможности их расщеплять. В результате такого связывания в системе изменяется электрическая проводимость, тем самым осуществляется быстрая и точная детекция. Одним из первых исследований, проведенных при помощи данного метода, было обнаружение мутации в клинических образцах пациентов с мышечной дистрофией Дюшенна [16].

CRISDA (CRISPR-Cas9-triggered nicking endonuclease-mediated Strand Displacement Amplification — запускаемая CRISPR/Cas9 цепезамещающая изотермическая амплификация, опосредованная никелирующей эндонуклеазой) — в основе данного метода применяется способ SDA, цепезамещающая изотермическая амплификация. Особенностью CRISDA является крайне высокая специфичность. Она достигается сначала за счет использования пары нуклеаз Cas9 со своими РАМ, фланкирующими мишень. Затем полученный фрагмент амплифицируется. На финальной стадии используется пептидо-нуклеиновая кислота (ПНК), комплементарная центральному участку наработанного фрагмента. С ПНК связана метка, которая при наличии мишени распознается методом анализа флуоресценции. Таким образом, CRISDA позволяет эффективно находить мишени при анализе геномов, за счет высокой специфичности результат получается точным и чистым. С другой стороны, существенно возрастают и требования к выбору мишени, что вносит ограничения в метод [48, 54].

FLASH (Finding Low Abundance Sequences by Hybridization — поиск последовательностей с низкой численностью при помощи гибридизации) — в данном подходе используют набор eРНК вместе с Cas9. Последовательность интереса нарезается на несколько фрагментов, которые далее могут быть секвенированы при помощи Illumina. Сначала концы ДНК блокируются фосфатазой для предотвращения лигирования с адаптерами, а затем разрезаются Cas9. ДНК-мишень расщепляется с образованием фрагментов с неблокированными концами и, таким образом, может быть связана с универсальными адаптерами, амплифицирована при помощи ПЦР и секвенирована. Методика была продемонстрирована на *Staphylococcus aureus*, возбудителе пневмонии, и на *Plasmodium falciparum*, вызывающем малярию [42].

CAS-EXPAR (CRISPR/Cas9 triggered isothermal exponential amplification reaction — метод экспоненциальной реакции амплификации (EXPAR), запускаемой при помощи CRISPR/Cas9). Для такой амплификации требуются короткие праймеры. Они генерируются при разрезании нуклеазой исходной оцДНК, содержащей РАМ. Праймеры участвуют в EXPAR, образуется дцДНК, которая может быть распознана при помощи методов флуоресценции.

Несмотря на такие сложности, методика по чувствительности не уступает ПЦР. Между тем данный подход характеризуется высокой специфичностью, позволяющей распознавать метилированную ДНК [12, 31]. По сравнению с другими методами изотермической амплификации, такими как NASBA, RCA (Rolling circle amplification — репликация по типу катящегося кольца), SDA (Strand displacement amplification — цепезамещающая амплификация), LAMP (Loop-mediated isothermal amplification — петлевая изотермическая амплификация) или RPA (recombinase polymerase amplification — рекомбиназная полимеразная амплификация), EXPAR характеризуется относительно высокой эффективностью и скоростью амплификации продукта [27, 52].

Cas9nAR (Cas9 nickase-based amplification reaction — амплификация на основе никазы Cas9). Как и в случае с CRISDA, важную роль в этом методе играет никаза. Ее функции здесь выполняет модифицированная нуклеаза Cas9 — вместо двунитевого она стала вносить одноцепочечный разрыв. При помощи этой никазы в дцДНК-мишень вносят два однонитевых разрыва, которые затем расширяются фрагментами Кленова. Далее при помощи праймера 1, содержащего последовательность, комплементарную РАМ мишени, происходит наращивание цепи. Вновь образуется дцДНК, которая снова надрезается никазой. Праймер 2, также комплементарный

РАМ, гибридизуется с образовавшейся оцДНК. Происходит новый надрез, оцДНК будет связываться снова с праймером 1. Цикл замыкается. При помощи интеркалирующего красителя можно получать данные о прохождении таких циклов активности никазы и праймирования последовательности. Платформа Cas9nAR продемонстрировала чувствительность на уровне до одной молекулы благодаря эффективному механизму экспоненциальной амплификации и специфичности к одному нуклеотиду за счет свойств Cas9 [48, 49].

Платформы диагностики на основе систем CRISPR/Cas V типа

DETECTR (DNA endonuclease-targeted CRISPR trans reporter — направляемое дезоксирибонуклеазой транс-расщепление репортера). В данном подходе используют ДНК-нуклеазу Cas12a. Платформа включает следующие этапы. На первой стадии подготавливается нуклеазный белок, проводится дизайн и синтез крРНК и праймеров. Далее из образца извлекается таргетная ДНК или РНК. Затем ее преамплифицируют, в случае РНК перед этим проводят обратную транскрипцию. Далее наступает этап детекции. Если участок одной из цепей наработанной дцДНК совпадает с гидовой РНК, связанной с Cas12a, то нуклеаза активируется. Как уже указывалось выше, этот белок способен к транс-активности. На этом свойстве и основана платформа. В результате при связывании с амплифицированной мишенью осуществляется транс-расщепление олигонуклеотида зонда из гасителя и флуорофора. Флуорофор может связываться в ходе иммунохроматографического анализа, либо же флуоресценция может быть непосредственно зарегистрирована прибором. Метод позволяет проводить мультиплексный анализ. Чувствительность и скорость у метода довольно высокие, однако для работы Cas12a требуется РАМ [25, 37].

Стоит отметить, что наработка ДНК осуществляется при помощи RPA (recombinase polymerase amplification — рекомбиназная полимеразная амплификация). При RPA праймеры образуют комплексы с рекомбиназными белками, после чего гибридизуются с ДНК. Такое состояние поддерживается SSB-белками. Затем рекомбиназа распадается, запускается процесс элонгации. Поскольку RPA осуществляется при невысоких температурах, то все основные этапы платформы можно выполнять в одной пробирке (one-pot), что снижает риски контаминации и ускоряет процесс [40].

Cas14-DETECTR — это вариация подхода *DETECTR* с использованием нуклеазы Cas14 вместо C12a. Этот относительно небольшой белок также обладает коллатеральной активностью,

однако в цис-положении он связывается не с двунитевой, а с оцДНК. Также для его работы не требуется РАМ [8, 17].

HOLMES (one-hour lowcost multipurpose highly efficient system — многоцелевая система эффективной одночасовой недорогой диагностики). Данный способ принципиально отличается от стандартного *DETECTR* лишь тем, что вместо изотермической амплификации используется ПЦР. Эффектором в данной платформе также выступает Cas12a.

Существует модификация метода, *HOLMESv2*, которая характеризуется использованием Cas12b. Примечательно для этого ортолога то, что запускать его коллатеральную активность может не только двухцепочечная, но и оцДНК. Более того, Cas12b в целом более активен при использовании оцДНК в качестве мишени. Также в данной модификации метода предполагается использование изотермической амплификации LAMP, что позволяет проводить анализ в одной пробирке. При этом несколько повышается чувствительность [30].

CDetection является очередной модификацией диагностической платформы на основе Cas12. В данном случае применяется ортолог AaCas12b, а в качестве мишени используется дцДНК. Авторы сообщают, что такой белок позволяет проводить детекцию с более высокой чувствительностью, чем Cas12a; есть успешные попытки использования без амплификации [46].

В платформе *E-CRISPR* тоже применяется Cas12a, при этом для детекции используется электрохимический анализ. Первые этапы схожи с протоколом для *DETECTR*, однако в качестве репортера используется конструкция, состоящая из части с метиленовым синим и тиоловой составляющей. Последняя нужна для закрепления репортеров на сенсорных электродах системы. В присутствии мишени фрагмент с метиленовым синим отщепляется от репортера, сигнал на электродах меняется. При отсутствии мишени репортер остается целым, изменений сигнала не регистрируется. Платформа характеризуется как точный и простой метод детекции целевых последовательностей. При этом преамплификация не требуется [14, 51].

В платформе *STOPCovid* также используются принципы *DETECTR*. При этом мишенью является РНК. Для амплификации авторы предлагают LAMP. Поскольку этот подход работает в температурном диапазоне 55–70°C, то используют AaCas12b — этот белок обладает термостабильными свойствами. Выделение РНК производят при помощи лизиса и магнитных шариков, тем самым временные затраты на этом этапе удается свести к 15 минутам. Далее к пробам добавляется реакционная смесь, содержащая нуклеазу и ре-

портеры. Затем проводят или анализ флуоресценции, или иммунохроматографический тест. По чувствительности, специфичности и уровню ложных результатов метод не уступает ПЦР в реальном времени [22].

Платформы диагностики на основе систем CRISPR/Cas VI типа

SHERLOCK (specific high-sensitivity enzymatic reporter unlocking — специфическое высокочувствительное ферментативное отщепление репортера). По общему принципу платформа не слишком отличается от DETECTR. Отличие заключается в эффекторном белке — для SHERLOCK это Cas13. Как уже упоминалось, в отличие от Cas12 этот белок является рибонуклеазой, осуществляющей разрезание оцРНК. Для Cas13 также характерна коллатеральная активность. При этом нарабатанная в ходе преамплификации ДНК должна быть транскрибирована в РНК. Необходимость этого подразумевает использование для амплификации праймеров, содержащих сайт промотора T7. Далее следует детекция последовательности мишени и анализ флуоресценции, как в DETECTR. Платформу можно применять для анализа в одной пробирке. Метод быстрый, высокочувствительный. Важный момент заключается в том, что для Cas13a не требуется PAM. Вместо этого значение играет PFS (protospacer flanking site — фланкирующий протоспейсер участок). PFS обычно не вносит столь строгого ограничения, как PAM, — его последовательность может быть переменной [24, 28].

Интересно, что модификация метода, *SHERLOCKv2*, допускает использование нескольких нуклеаз — это позволяет проводить мультиплексный анализ. Подход предусматривает распознавание до четырех мишеней в одной пробирке [15].

HUDSON (heating unextracted diagnostic samples to obliterate nucleases — нагревание неэкстрагированных диагностических образцов для уничтожения нуклеаз) — способ быстрой подготовки образцов, позволяющей сэкономить время на этапе экстракции нуклеиновых кислот. Нагревание и химическое восстановление приводит к инактивации нуклеаз, содержащихся в пробах, далее производится лизис вирусных частиц — и таким образом получается раствор, в котором можно проводить детекцию мишеней. Сочетание данного метода с SHERLOCK позволяет проводить всю диагностику за 2 часа [38].

SHINE (streamlined highlighting of infections to navigate epidemics — модифицированное определение инфекций с целью борьбы с эпидемиями). Эта платформа была разработана в результате сочетания вышеуказанных подходов для

CRISPR/Cas-систем VI типа. Сначала образцы подвергают обработке, как в методе HUDSON, тем самым инактивируя клеточные ферменты, а затем высвобожденные нуклеиновые кислоты подвергают диагностике SHERLOCK. Метод применим для детекции SARS-CoV-2 [9].

CARMEN (Combinatorial Arrayed Reactions for Multiplexed Evaluation of Nucleic acids — мультиплексный анализ нуклеиновых кислот при помощи комбинаций реакций). На первом этапе нуклеиновые кислоты амплифицируют при помощи ПЦР или RPA. Далее к каждому образцу добавляют уникальный краситель. Смесь разделяют на капли. При этом также создаются смеси, содержащие Cas13 с определенными егРНК с флуорофорами. Далее капли из каждой смеси попарно загружают в микролунки чипа. При совпадении спейсера егРНК с мишенью Cas13 высвобождает флуорофор. Нужная комбинация капель детектируется. CARMEN не уступает по чувствительности SHERLOCK и разработан для мультиплексного анализа [5].

APC-Cas (allosteric probe-initiated catalysis and CRISPR-Cas13a — иницируемый аллостерическим зондом запуск амплификации, сочетаемый с CRISPR/Cas13a). Для данного подхода характерно использование специфического аллостерического зонда, представляющего собой оцДНК. В зонде различают три участка: аптамер для распознавания мишени, сайт связывания праймера и последовательность промотора T7. При отсутствии мишени зонд находится в неактивном состоянии: представляет собой шпильку, при этом сайт связывания праймера и участок промотора T7 оказываются заблокированными, и запуск амплификации невозможен. В присутствии патогена-мишени аптамерный участок зонда может специфически распознавать мишень и связываться с ней. В результате шпилька зонда будет разворачиваться, становясь активной, что позволяет праймерам отжигаться. Зонд работает в качестве матрицы, при помощи полимеразы формируется дцДНК, которая может участвовать в последующих циклах связывания с зондом и амплификации. Далее при помощи РНК-полимеразы T7 образуется множество оцРНК. Полученный продукт взаимодействует с Cas13a, запуская коллатеральную активность, что приводит к расщеплению репортера и флуоресценции [43].

PECL-CRISPR (portable electrochemiluminescence chip — портативный электрохемилюминесцентный чип). Данная платформа разработана для определения микроРНК, потенциальных маркеров ранней диагностики онкологических заболеваний. После связывания микроРНК с эффектором платформы, белком LbuCas13a, запускается коллатеральная активность последнего. В качестве репортера при-

меняется так называемый претриггер. После расщепления его 5'-фрагмент может выступать в качестве праймера для амплификации. Нарбатывается дцДНК, которая распознается никелирующей эндонуклеазой, вносящей разрывы. За счет чередования циклов расщепления и удлинения нарабатываются большие количества ДНК. Разумеется, при отсутствии мишени такого не происходит. Таким образом, на этом этапе используется подход CAS-EXPAR. Далее добавляется рутениумный комплекс, в присутствии ДНК способный к люминесценции. При этом осуществляется окисление ком-

плекса на аноде, регистрируемое платформой. Полученные показатели пропорциональны количеству мишени, поэтому метод позволяет определять не только наличие микроРНК, но и их число [53].

Заключение

Итак, были рассмотрены основные применяемые на данный момент методики молекулярной диагностики на основе систем CRISPR/Cas. Каждый из этих подходов обладает своими интересными особенностями, преимуществами и не-

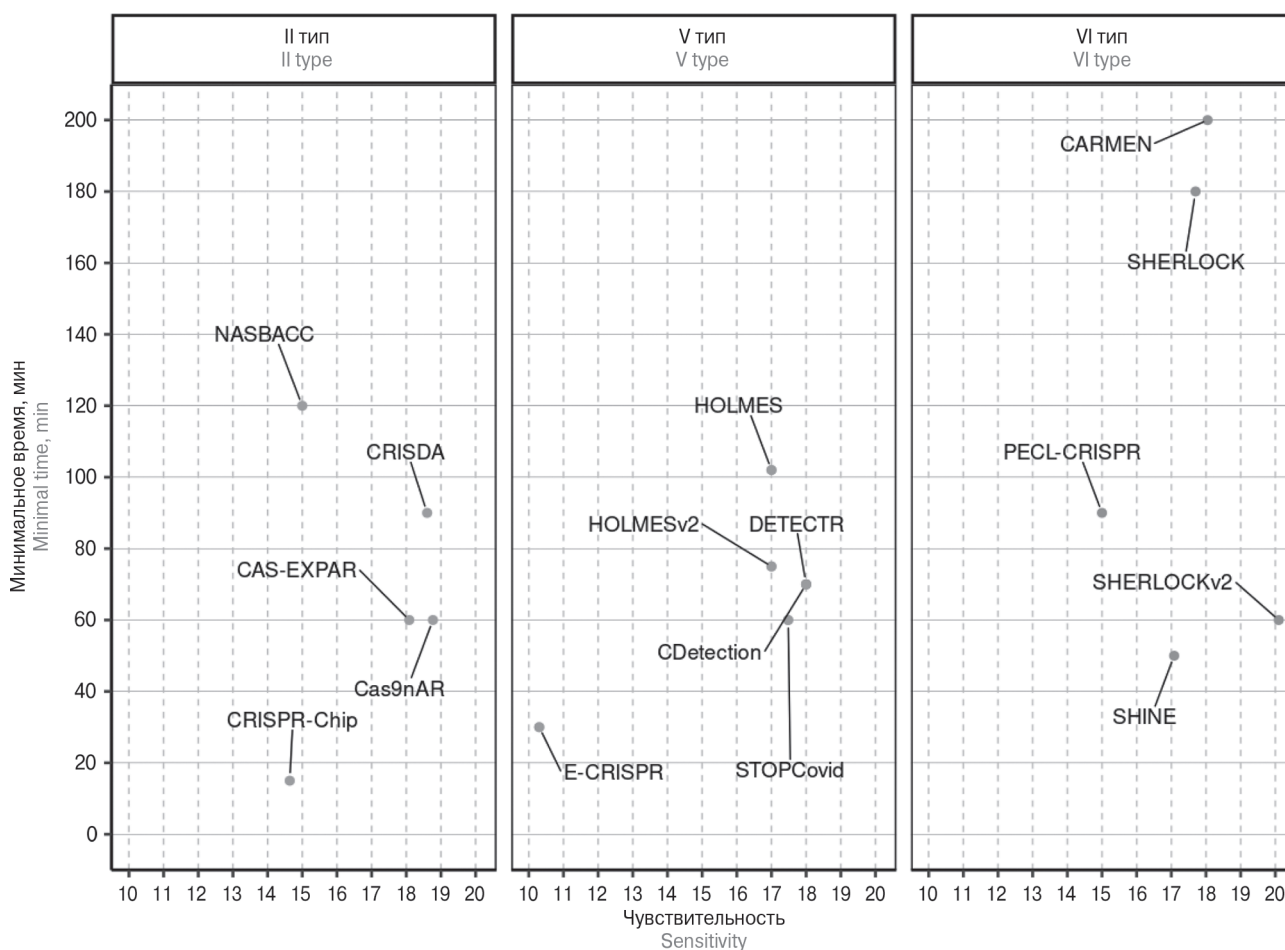


Рисунок. Чувствительность и время проведения анализа различными платформами диагностики на основе CRISPR/Cas

Figure. Sensitivity and time frame for assay execution by diagnostic CRISPR/Cas-based platforms

Примечание. На точечной диаграмме платформы разделены по типам систем CRISPR/Cas. Для платформ установлено время проведения анализа, приведены величины чувствительности методов в одинаковых величинах [23]. По вертикали — показатель минимального времени выполнения анализа в минутах, оценивался по нижнему порогу временных затрат на проведение преамплификации (если требовалась в методе) и непосредственно детекции при помощи CRISPR/Cas. По горизонтали — показатель уровня чувствительности, который определялся как модуль десятичного логарифма от предела детекции в моль/л. Чем выше этот параметр, тем меньшие концентрации последовательностей-мишеней могут быть обнаружены при помощи платформы.

Note. Scatter plot demonstrates two important characteristics for diagnostic platforms based on different types of CRISPR/Cas system [23]. The Y-axis shows minimal time period (minutes) for assay execution, it includes time of preamplification (if necessary) and detection procedure. The X-axis denotes the sensitivity level, which is defined as the modulus of the decimal logarithm of LOD (mol/L). The higher parameter, the lower ability of platform to detect decreasing concentrations of target sequences.

достатками. Например, диагностические платформы, разработанные на основе разных типов систем CRISPR/Cas второго класса [23], различаются по двум важным показателям: по чувствительности обнаружения мишеней и по времени проведения анализа (рис.).

В целом за последние несколько лет множество вариаций разработанных платформ показали свою эффективность и перспективность. Стоит ожидать активного применения данных методов и в нашей стране — силами отечественных исследовательских институтов ведутся изыскания в области их оптимизации и разработка оригинальных патентоспособных технологий [1, 3, 4].

В завершение данного обзора стоит отметить: тенденция такова, что обоснованный

интерес к системам CRISPR/Cas будет только расти в ближайшее время, поскольку конструировать и применять их относительно несложно, при этом необходимые операции производятся быстро, точно и не требуют серьезных затрат. В то же время возможности по применению систем необычайно широки, и одним из главных новых трендов выступает их использование в диагностических платформах [2]. Все это особенно актуально на данный момент в связи с непростой эпидемиологической обстановкой, выдвинувшей новые требования к подходам по выявлению возбудителей заболеваний. Уже существующие и создаваемые диагностические платформы на базе CRISPR/Cas имеют все шансы занять нишу таких инструментов за счет своих преимуществ.

Список литературы/References

1. Дятлов И.А. Возможности использования CRISPR-Cas-системы для диагностических целей в медицинской микробиологии // Бактериология. 2017. Т. 2, № 4. С. 5–6. [Dyatlov I.A. Possibilities of using CRISPR-Cas system for diagnostics in medical microbiology. *Bacteriologiya = Bacteriology*, 2017, vol. 2, no. 4, pp. 5–6. (In Russ.)]
2. Тюменцев А.И., Тюменцева М.А. CRISPR нуклеазы // Генетические технологии / Ю.В. Михайлова, А.М. Нагорных, В.В. Петров, А.Е. Судына, А.И. Тюменцев, М.А. Тюменцева, А.А. Шеленков; под ред. В.Г. Акимкина. М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2020. С. 63–85. [Tyumentsev A.I., Tyumentseva M.A. CRISPR nucleases. In: Genetic technologies. Yu.V. Mikhailova, A.M. Nagornyykh, V.V. Petrov, A.E. Sudyina, A.I. Tyumentsev, M.A. Tyumentsev, A.A. Shelenkov; ed. by V.G. Akimkin. Moscow: Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2020. P. 63–85. (In Russ.)]
3. Патент № 2707542 Российская Федерация, МПК C12N 9/22, C12N 15/09, C12P 21/02, C07K 1/18, C07K 1/32, C07K 1/36 (2019.08). Способ получения препарата рекомбинантной нуклеазы CAS, по существу, свободного от бактериальных эндотоксинов, полученный данным способом препарат и содержащий его набор для использования в системе CRISPR/Cas. № 2019109018; заявлено 2019.03.28; опубликовано 2019.11.27 / Акимкин В.Г., Тюменцев А.И., Тюменцева М.А., Шагин Д.А. Патентообладатель: ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. 131 с. [Patent No. 2707542 Russian Federation, Int. Cl. C12N 9/22, C12N 15/09, C12P 21/02, C07K 1/18, C07K 1/32, C07K 1/36 (2019.08). Method of producing a recombinant nucleases essentially free of bacterial endotoxins, the preparation obtained by this method and containing a kit for use in a CRISPR/Cas system. No. 2019109018; application: 2019.03.28; date of publication 2019.11.27 / Akimkin V.G., Tyumentsev A.I., Tyumentseva M.A., Shagin D.A. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki "Tsentralnyj nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii" Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitel'j i blagopoluchiya cheloveka (FBUN TSNII Epidemiologii Rospotrebнадзора). 131 p. (In Russ.)]
4. Патент № 2747820 Российская Федерация, МПК C12Q 1/6816, C12N 9/22, C12N 15/113 (2021.02). Система CRISPR-Cas для выявления ДНК вируса Джона Каннингема (JCPyV) в ультранизких концентрациях. № 2020139162; заявлено 2020.11.30; опубликовано 2021.05.14 / Тюменцев А.И., Тюменцева М.А., Акимкин В.Г. Патентообладатель: ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. 21 с. [Patent No. 2747820 Russian Federation, Int. Cl. C12Q 1/6816, C12N 9/22, C12N 15/113 (2021.02). CRISPR-Cas system for detection of John Cunningham virus (JCPyV) DNA at ultralow concentrations. No. 2020139162; application: 2020.11.30; date of publication 2021.05.14 / Tyumentsev A.I., Tyumentseva M.A., Akimkin V.G. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki "Tsentralnyj nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii" Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitel'j i blagopoluchiya cheloveka (FBUN TSNII Epidemiologii Rospotrebнадзора). 21 p. (In Russ.)]
5. Ackerman C.M., Myhrvold C., Thakku S.G., Freije C.A., Metsky H.C., Yang D.K., Ye S.H., Boehm C.K., Kosoko-Thoroddsen T.S.F., Kehe J., Nguyen T.G., Carter A., Kulesa A., Barnes J.R., Dugan V.G., Hung D.T., Blainey P.C., Sabeti P.C. Massively multiplexed nucleic acid detection with Cas13. *Nature*, 2020, vol. 582, no. 7811, pp. 277–282. doi: 10.1038/s41586-020-2279-8
6. Agarwal N., Gupta R. History, evolution and classification of CRISPR-Cas associated systems. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2021, vol. 179, pp. 11–76. doi: 10.1016/bs.pmbts.2020.12.012
7. Anders C., Niewoehner O., Duerst A., Jinek M. Structural basis of PAM-dependent target DNA recognition by the Cas9 endonuclease. *Nature*, 2014, vol. 513, no. 7519, pp. 569–573. doi: 10.1038/nature13579
8. Aquino-Jarquin G. CRISPR-Cas14 is now part of the artillery for gene editing and molecular diagnostic. *Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med.*, 2019, vol. 18, pp. 428–431. doi: 10.1016/j.nano.2019.03.006
9. Arizti-Sanz J., Freije C.A., Stanton A.C., Petros B.A., Boehm C.K., Siddiqui S., Shaw B.M., Adams G., Kosoko-Thoroddsen T.S.F., Kembal M.E., Uwanibe J.N., Ajogbasile F.V., Eromon P.E., Gross R., Wronka L., Caviness K., Hensley L.E., Bergman N.H., MacInnis B.L., Myhrvold C. Streamlined inactivation, amplification, and Cas13-based detection of SARS-CoV-2. *Nature Communications*, 2020, vol. 11, no. 1: 5921. doi: 10.1038/s41467-020-19097-x
10. Barrangou R. Diversity of CRISPR-Cas immune systems and molecular machines. *Genome Biology*, 2015, vol. 16, no. 1: 247. doi: 10.1186/s13059-015-0816-9

11. Bauer D.E., Canver M.C., Orkin S.H. Generation of genomic deletions in mammalian cell lines via CRISPR/Cas9. *J. Vis. Exp.*, 2015, vol. 95: e52118. doi: 10.3791/52118
12. Bonini A., Poma N., Vivaldi F., Kirchhain A., Salvo P., Bottai D., Tavanti A., Di Francesco F. Advances in biosensing: the CRISPR/Cas system as a new powerful tool for the detection of nucleic acids. *J. Pharm. Biomed.*, 2021, vol. 192: 113645. doi: 10.1016/j.jpba.2020.113645
13. Cofsky J.C., Karandur D., Huang C.J., Witte I.P., Kuriyan J., Doudna J.A. CRISPR-Cas12a exploits R-loop asymmetry to form double-strand breaks. *ELife*, 2020, vol. 9: e55143. doi: 10.7554/eLife.55143
14. Dai Y., Somoza R.A., Wang L., Welter J.F., Li Y., Caplan A.I., Liu C.C. Exploring the trans-cleavage activity of CRISPR-Cas12a (cpf1) for the development of a universal electrochemical biosensor. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2019, vol. 58, no. 48, pp. 17399–17405. doi: 10.1002/anie.201910772
15. Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Kellner M.J., Joung J., Collins J.J., Zhang F. Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a and Csm6. *Science*, 2018, vol. 360, no. 6387, pp. 439–444. doi: 10.1126/science.aag0179
16. Hajian R., Balderston S., Tran T., DeBoer T., Etienne J., Sandhu M., Wauford N.A., Chung J.Y., Nokes J., Athaiya M., Paredes J., Peytavi R., Goldsmith B., Murthy N., Conboy I.M., Aran K. Detection of unamplified target genes via CRISPR–Cas9 immobilized on a graphene field-effect transistor. *Nat. Biomed. Eng.*, 2019, vol. 3, no. 6, pp. 427–437. doi: 10.1038/s41551-019-0371-x
17. Harrington L.B., Burstein D., Chen J.S., Paez-Espino D., Ma E., Witte I.P., Cofsky J.C., Kyripides N.C., Banfield J.F., Doudna J.A. Programmed DNA destruction by miniature CRISPR-Cas14 enzymes. *Science*, 2018, vol. 362, no. 6416, pp. 839–842. doi: 10.1126/science.aav4294
18. Horvath P., Barrangou R. CRISPR/Cas, the immune system of Bacteria and Archaea. *Science*, 2010, vol. 327, no. 5962, pp. 167–170. doi: 10.1126/science.1179555
19. Ishino Y., Krupovic M., Forterre P. History of CRISPR-Cas from encounter with a mysterious repeated sequence to genome editing technology. *J. Bacteriol.*, 2018, vol. 200, no. 7: e00580-17. doi: 10.1128/JB.00580-17
20. Ishino Y., Shinagawa H., Makino K., Amemura M., Nakamura A. Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isoenzyme conversion in Escherichia coli, and identification of the gene product. *J. Bacteriol.*, 1987, vol. 169, no. 12, pp. 5429–5433. doi: 10.1128/jb.169.12.5429-5433.1987
21. Jiang Y., Chen B., Duan C., Sun B., Yang J., Yang S. Multigene editing in the Escherichia coli genome via the CRISPR-Cas9 system. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2015, vol. 81, no. 7, pp. 2506–2514. doi: 10.1128/AEM.04023-14
22. Joung J., Ladha A., Saito M., Kim N.-G., Woolley A.E., Segel M., Barretto R.P.J., Ranu A., Macrae R.K., Faure G., Ioannidi E.I., Krajcski R.N., Bruneau R., Huang M.-L.W., Yu X.G., Li J.Z., Walker B.D., Hung D.T., Greninger A.L., Zhang F. Detection of SARS-CoV-2 with SHERLOCK One-Pot Testing. *N. Engl. J. Med.*, 2020, vol. 383, no. 15, pp. 1492–1494. doi: 10.1056/nejmc2026172
23. Kaminski M.M., Abudayyeh O.O., Gootenberg J.S., Zhang F., Collins J.J. CRISPR-based diagnostics. *Nat. Biomed. Eng.*, 2021, vol. 5, no. 7, pp. 643–656. doi: 10.1038/s41551-021-00760-7
24. Kellner M.J., Koob J.G., Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Zhang F. SHERLOCK: nucleic acid detection with CRISPR nucleases. *Nat. Protoc.*, 2019, vol. 14, no. 10, pp. 2986–3012. doi: 10.1038/s41596-019-0210-2
25. Kim S., Ji S., Koh H.R. Crispr as a diagnostic tool. *Biomolecules*, 2021, vol. 11, no. 8: 1162. doi: 10.3390/biom11081162
26. Koonin E.V., Makarova K.S. Origins and evolution of CRISPR-Cas systems. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2019, vol. 374, no. 1772: 20180087. doi: 10.1098/rstb.2018.0087
27. Lau A., Ren C., Lee L.P. Critical review on where CRISPR meets molecular diagnostics. *Progress in Biomedical Engineering*, 2020, vol. 3, no 1: 012001. doi: 10.1088/2516-1091/abbf5e
28. Lee R.A., De Puig H., Nguyen P.Q., Angenent-Mari N.M., Donghia N.M., McGee J.P., Dvorin J.D., Klapperich C.M., Pollock N.R., Collins J.J. Ultrasensitive CRISPR-based diagnostic for field-applicable detection of Plasmodium species in symptomatic and asymptomatic malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2020, vol. 117, no. 41, pp. 25722–25731. doi: 10.1073/pnas.2010196117
29. Li C.L., Hor L.I., Chang Z.F., Tsai L.C., Yang W.Z., Yuan H.S. DNA binding and cleavage by the periplasmic nuclease Vvn: a novel structure with a known active site. *EMBO Journal*, 2003, vol. 22, no. 15, pp. 4014–4025. doi: 10.1093/emboj/cdg377
30. Li S.Y., Cheng Q.X., Li X.Y., Zhang Z.L., Gao S., Cao R.B., Zhao G.P., Wang J., Wang J.M. CRISPR-Cas12a-assisted nucleic acid detection. *Cell Discovery*, 2018, vol. 4: 20. doi: 10.1038/s41421-018-0028-z
31. Li Y., Li S., Wang J., Liu G. CRISPR/Cas systems towards next-generation biosensing. *Trends Biotechnol.*, 2019, vol. 37, no. 7, pp. 730–743. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.12.005
32. Li Z., Zhang H., Xiao R., Han R., Chang L. Cryo-EM structure of the RNA-guided ribonuclease Cas12g. *Nat. Chem. Biol.*, 2021, vol. 17, no. 4, pp. 387–393. doi: 10.1038/s41589-020-00721-2
33. Makarova K.S., Wolf Y.I., Alkhnbashi O.S., Costa F., Shah S.A., Saunders S.J., Barrangou R., Brouns S.J.J., Charpentier E., Haft D.H., Horvath P., Moineau S., Mojica F.J.M., Terns R.M., Terns M.P., White M.F., Yakunin A.F., Garrett R.A., Van Der Oost J., Koonin E.V. An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2015, vol. 13, no. 11, pp. 722–736. doi: 10.1038/nrmicro3569
34. Makarova K.S., Wolf Y.I., Iranzo J., Shmakov S.A., Alkhnbashi O.S., Brouns S.J.J., Charpentier E., Cheng D., Haft D.H., Horvath P., Moineau S., Mojica F.J.M., Scott D., Shah S.A., Siksnys V., Terns M.P., Venclovas Č., White M.F., Yakunin A.F., Yan W., Zhang F., Garrett R.A., Backofen R., van der Oost J., Barrangou R., Koonin E.V. Evolutionary classification of CRISPR–Cas systems: a burst of class 2 and derived variants. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2020, vol. 18, no. 2, pp. 67–83. doi: 10.1038/s41579-019-0299-x
35. Mans R., van Rossum H.M., Wijsman M., Backx A., Kuijpers N.G.A., van den Broek M., Daran-Lapujade P., Pronk J.T., van Maris A.J.A., Daran J.M.G. CRISPR/Cas9: a molecular Swiss army knife for simultaneous introduction of multiple genetic modifications in Saccharomyces cerevisiae. *FEMS Yeast Res.*, 2015, vol. 15, no. 2: fov004. doi: 10.1093/femsyr/fov004
36. Marraffini L.A. CRISPR-Cas immunity in prokaryotes. *Nature*, 2015, vol. 526, no. 7571, pp. 55–61. doi: 10.1038/nature15386
37. Mustafa M.I., Makhawi A.M. SHERLOCK and DETECTR: CRISPR-Cas systems as potential rapid diagnostic tools for emerging infectious diseases and cancer-associated mutations. *Preprints*, 2020, 2020040080. doi: 10.20944/preprints202004.0080.v1

38. Myhrvold C., Freije C.A., Gootenberg J.S., Abudayyeh O.O., Metsky H.C., Durbin A.F., Kellner M.J., Tan A.L., Paul L.M., Parham L.A., Garcia K.F., Barnes K.G., Chak B., Mondini A., Nogueira M.L., Isern S., Michael S.F., Lorenzana I., Yozwiak N.L., MacInnis B.L., Bosch I., Gehrke L., Zhang F., Sabeti P.C. Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13. *Science*, 2018, vol. 360, no. 6387, pp. 444–448. doi: 10.1126/science.aas8836
39. Nishimasu H., Ran F.A., Hsu P.D., Konermann S., Shehata S.I., Dohmae N., Ishitani R., Zhang F., Nureki O. Crystal structure of Cas9 in complex with guide RNA and target DNA. *Cell*, 2014, vol. 156, no. 5, pp. 935–949. doi: 10.1016/j.cell.2014.02.001
40. Piepenburg O., Williams C.H., Stemple D.L., Armes N.A. DNA detection using recombination proteins. *PLoS Biology*, 2006, vol. 4, no. 7, pp. 1115–1121. doi: 10.1371/journal.pbio.0040204
41. Pinilla-Redondo R., Mayo-Muñoz D., Russel J., Garrett R.A., Randau L., Sørensen S.J., Shah S.A. Type IV CRISPR-Cas systems are highly diverse and involved in competition between plasmids. *Nucleic Acids Res.*, 2020, vol. 48, no. 4, pp. 2000–2012. doi: 10.1093/nar/gkz1197
42. Quan J., Langelier C., Kuchta A., Batson J., Teyssier N., Lyden A., Caldera S., McGeever A., Dimitrov B., King R., Wilhelm J., Murphy M., Ares L.P., Trivisano K.A., Sit R., Amato R., Mumbengewi D.R., Smith J.L., Bennett A., Gosling R., Mourani P.M., Calfee C.S., Neff N.F., Chow E.D., Kim P.S., Greenhouse B., DeRisi J.L., Crawford E.D. FLASH: a next-generation CRISPR diagnostic for multiplexed detection of antimicrobial resistance sequences. *Nucleic Acids Res.*, 2019, vol. 47, no. 14: e83. doi: 10.1093/nar/gkz418
43. Shen J., Zhou X., Shan Y., Yue H., Huang R., Hu J., Xing D. Sensitive detection of a bacterial pathogen using allosteric probe-initiated catalysis and CRISPR-Cas13a amplification reaction. *Nat. Commun.*, 2020, vol. 11: 267. doi: 10.1038/s41467-019-14135-9
44. Shmakov S., Smargon A., Scott D., Cox D., Pyzocha N., Yan W., Abudayyeh O.O., Gootenberg J.S., Makarova K.S., Wolf Y.I., Severinov K., Zhang F., Koonin E.V. Diversity and evolution of class 2 CRISPR-Cas systems. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2017, vol. 15, no. 3, pp. 169–182. doi: 10.1038/nrmicro.2016.184
45. Sontheimer E.J., Barrangou R. The bacterial origins of the CRISPR genome-editing revolution. *HGT*, 2015, vol. 26, no. 7, pp. 413–424. doi: 10.1089/hum.2015.091
46. Teng F., Guo L., Cui T., Wang X.G., Xu K., Gao Q., Zhou Q., Li W. CDetection: CRISPR-Cas12b-based DNA detection with sub-attomolar sensitivity and single-base specificity. *Genome Biol.*, 2019, vol. 20, no. 1: 132. doi: 10.1186/s13059-019-1742-z
47. Varble A., Marraffini L.A. Three New C's for CRISPR: collateral, communicate, cooperate. *Trends Genet.*, 2019, vol. 35, no. 6, pp. 446–456. doi: 10.1016/j.tig.2019.03.009
48. Wang M., Zhang R., Li J. CRISPR/cas systems redefine nucleic acid detection: principles and methods. *Biosens. Bioelectron.*, 2020, vol. 165: 112430. doi: 10.1016/j.bios.2020.112430
49. Wang T., Liu Y., Sun H.H., Yin B.C., Ye B.C. An RNA-Guided Cas9 nickase-based method for universal isothermal DNA amplification. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2019, vol. 58, no. 16, pp. 5382–5386. doi: 10.1002/anie.201901292
50. Yan F., Wang W., Zhang J. CRISPR-Cas12 and Cas13: the lesser known siblings of CRISPR-Cas9. *Cell Biol. Toxicol.*, 2019, vol. 35, no. 6, pp. 489–492. doi: 10.1007/s10565-019-09489-1
51. Zhang J., Lv H., Li L., Chen M., Gu D., Wang J., Xu Y. Recent improvements in CRISPR-based amplification-free pathogen detection. *Front. Microbiol.*, 2021, vol. 12: 751408. doi: 10.3389/fmicb.2021.751408
52. Zhang Y., Zhang C.Y. Sensitive detection of microRNA with isothermal amplification and a single-quantum-dot-based nanosensor. *Analytical Chemistry*, 2012, vol. 84, no. 1, pp. 224–231. doi: 10.1021/ac202405q
53. Zhou T., Huang R., Huang M., Shen J., Shan Y., Xing D. CRISPR/Cas13a powered portable electrochemiluminescence chip for ultrasensitive and specific MiRNA detection. *Advanced Science*, 2020, vol. 7, no. 13: 1903661. doi: 10.1002/adv.201903661
54. Zhou W., Hu L., Ying L., Zhao Z., Chu P.K., Yu X.F. A CRISPR-Cas9-triggered strand displacement amplification method for ultrasensitive DNA detection. *Nat. Commun.*, 2018, vol. 9, no. 1: 5012. doi: 10.1038/s41467-018-07324-5

Авторы:

Волков А.А., младший научный сотрудник группы молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Долгова А.С., к.б.н., старший научный сотрудник, руководитель группы молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Дедков В.Г., к.м.н., заместитель директора по научной работе ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Volkov A.A., Junior Researcher, Group of Molecular Genetics of Pathogenic Microorganisms, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Dolgova A.S., PhD (Biology), Senior Researcher, Head of the Group of Molecular Genetics of Pathogenic Microorganisms, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Dedkov V.G., PhD (Medicine), Deputy Director for Scientific Work, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 07.12.2021
 Отправлена на доработку 16.01.2022
 Принята к печати 22.01.2022

Received 07.12.2021
 Revision received 16.01.2022
 Accepted 22.01.2022

РОЛЬ *HELICOBACTER PYLORI* В КОМПЛЕКСНОЙ КОМОРБИДНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

А.В. Сергеева, В.В. Шкарин, О.В. Ковалишена

ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет МЗ РФ, Нижний Новгород, Россия

Резюме. Одной из главных особенностей современной медицины является тот факт, что большинство соматических заболеваний утрачивают моноэтиологический характер и приобретают статус коморбидных. Изучение комплексной коморбидности стоит в приоритете у специалистов различных медицинских специальностей. Результаты научных исследований позволили сформировать основные направления в изучении состояния коморбидности. К ним прежде всего относится изучение частоты и общих закономерностей сочетанности патологий, определение особенностей клинического течения и тактики применения лекарственной терапии. Состояние коморбидности редко рассматривается в отношении инфекционных болезней. Нужно понимать, что термин «коморбидность» обозначает одновременное наличие нескольких заболеваний, и его можно и нужно применять в случае сочетания соматической и инфекционной патологии как сложного патологического состояния, но с некоторыми дополнениями. Термин «комплексная коморбидность», по нашему мнению, правомерно использовать при одновременном или последовательном наличии психосоматической патологии и моноэтиологической инфекции, а также при соматической патологии и полиэтиологической инфекции. После открытия *H. pylori* в течении последних десятилетий появилось значительное число работ о роли данного микроорганизма в этиологии и патогенезе множества соматических заболеваний. Накопленные знания позволили определить, что наиболее часто встречаемой бактериальной инфекцией у человека является именно хеликобактериоз и *H. pylori* рассматривается как причина формирования патологии желудочно-кишечного тракта и других органов и систем. На сегодняшнем этапе развития медицины *H. pylori* ассоциирован не только с возникновением язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, поскольку патогенное действие этого микроорганизма не ограничивается исключительно заболеваниями гастродуоденальной области. Хеликобактерная инфекция может рассматриваться в качестве триггера при возникновении такой соматической патологии, как хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, MALT-лимфома, аденокарцинома желудка. Данные состояния можно отнести к статусу комплексной коморбидности. На сегодняшний день достоверно определены ассоциативные связи между хеликобактериозом и идиопатической железодефицитной анемией, а также хеликобактериозом и идиопатической тромбоцитопенической пурпурой. Таким образом, разнообразные клинические аспекты хеликобактерной инфекции являются гетерогенными и имеют широкий спектр патологических состояний, доказательная база которых пополняется данными как в плане патогенеза, так и клинических составляющих.

Ключевые слова: коморбидность, *Helicobacter pylori*, системная красная волчанка, прогрессирующий системный склероз, ревматоидный артрит, синдром Рейно, язвенная болезнь.

Адрес для переписки:

Сергеева Анжелика Вячеславовна
603950, Россия, Нижний Новгород, пл. Минина
и Пожарского, 10/1, ФГБОУ ВО Приволжский
исследовательский медицинский университет МЗ РФ.
Тел.: 8 (831) 436-94-81.
E-mail: sergeeva-av2013@yandex.ru

Contacts:

Anzhelika V. Sergeeva
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod,
Minin and Pozharsky sqr., 10/1, Privolzhsky Research Medical
University of the Ministry of Health of the Russian Federation.
Phone: +7 (831) 436-94-81.
E-mail: sergeeva-av2013@yandex.ru

Для цитирования:

Сергеева А.В., Шкарин В.В., Ковалишена О.В. Роль *Helicobacter pylori* в комплексной коморбидности человека // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 21–32. doi: 10.15789/2220-7619-TRO-1667

Citation:

Sergeeva A.V., Shkarin V.V., Kovalishena O.V. The role of *Helicobacter pylori* in complex human comorbidity // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 21–32. doi: 10.15789/2220-7619-TRO-1667

THE ROLE OF *HELICOBACTER PYLORI* IN COMPLEX HUMAN COMORBIDITY

Sergeeva A.V., Shkarin V.V., Kovalishena O.V.

Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. One of the main features of modern medicine is the fact that the majority of somatic diseases lose their mononological nature and acquire the status of comorbidity. Examining complex comorbidity is a priority for specialists in various medical disciplines. Accomplishing scientific research and obtaining necessary data as well as their further comprehension allowed to formulate major directions for investigating a comorbidity issue. Primarily, it concerns studying rate and general patterns for combination of pathologies, determining features of clinical course and strategy for using drug therapy. Comorbidity issue is rarely considered among infectious diseases. It should be understood that a term “comorbidity” refers to the state of the concomitant detection of several diseases. This terminology may and should be applied to combined somatic and infectious pathology envisioned as a complex pathological condition, but with some additions. The term “complex comorbidity”, in our opinion, is also valid both in case of either simultaneous or sequential presence of psychosomatic pathology and monoetiological infection, as well as somatic pathology and polyetiological infection. After *H. pylori* was discovered, over the past decades a significant number of studies have emerged regarding a role of helicobacter in etiology and pathogenesis of a large number of somatic diseases. The accumulated knowledge has determined that Helicobacteriosis is the most common bacterial infection in human, and *H. pylori* is considered as the cause for developing pathology of the gastrointestinal tract as well as other host organs and systems. At the current stage in the development of medicine, *H. pylori* is not only associated with occurrence of gastric and duodenal ulcers, because the microbe-linked pathogenic effect is not limited only to diseases of the gastroduodenal area. *Helicobacter pylori* infection can be considered as a trigger in emerging somatic pathology such as chronic gastritis, gastric and duodenal ulcer, MALT lymphoma, and gastric adenocarcinoma. These conditions may be referred to the status of complex comorbidity. To date, association links between *Helicobacter pylori* and idiopathic iron deficiency anemia, as well as idiopathic thrombocytopenic purpura, have been reliably determined. Thus, various clinical aspects of *H. pylori* infection are heterogeneous and have a wide range of pathological conditions, which evidence base is replenished with data both in terms of pathogenesis and clinical components.

Key words: *comorbidity, Helicobacter pylori, systemic lupus erythematosus, progressive systemic sclerosis, rheumatoid arthritis, Raynaud syndrome, peptic ulcer.*

Одной из главных особенностей современной медицины является тот факт, что большинство соматических заболеваний утрачивают моноэтиологический характер и приобретают статус коморбидных [2, 3, 4, 13]. Изучение комплексной коморбидности стоит в приоритете у специалистов различных медицинских специальностей. Результаты научных исследований позволили сформировать основные направления в изучении состояния коморбидности. К ним прежде всего относится изучение частоты и общих закономерностей сочетанности патологий, определение особенностей клинического течения и тактики применения лекарственной терапии. Следует отметить, что состояние коморбидности редко рассматривается в отношении инфекционных болезней. Однако в последнее время все чаще на научно-практических конференциях и конгрессах, касающихся проблем инфекционной патологии, можно встретить данную тематику сообщений и публикаций [2, 3, 5, 6, 12, 13, 21].

Нужно понимать, что под термином «коморбидность» рассматривается состояние одновременного наличия нескольких заболеваний. Данную терминологию можно и нужно применять и в отношении сочетания соматической и инфекционной патологии как сложного патологического состояния, но с некоторыми

дополнениями. Термин «комплексная коморбидность», по нашему мнению, правомерно использовать при одновременном или последовательном развитии психосоматической патологии и моноэтиологической инфекции, а также при соматической патологии и полиэтиологической инфекции.

После открытия *H. pylori* в течение последних десятилетий появилось значительное число работ о роли *H. pylori* в этиологии и патогенезе множества соматических заболеваний [5, 50]. Накопленные знания позволили определить, что наиболее часто встречаемой бактериальной инфекцией у человека является именно хеликобактериоз и *H. pylori* рассматривается как причина формирования патологии желудочно-кишечного тракта и других органов и систем [6, 7, 17, 24, 34, 47, 48, 55].

На сегодняшнем этапе развития медицины *H. pylori* ассоциирован не только с возникновением язвенной болезни (ЯБ) желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК), поскольку патогенное действие этого микроорганизма не ограничивается исключительно заболеваниями гастродуоденальной области [7, 18, 43, 51, 53]. Хеликобактерная инфекция может рассматриваться в качестве триггера при возникновении такой соматической патологии, как хронический гастрит (ХГ), ЯБ желудка и ДПК,

МАLT-лимфома, аденокарцинома желудка. Данные состояния можно отнести к статусу комплексной коморбидности. К настоящему времени достоверно определены ассоциативные связи между хеликобактериозом и идиопатической железодефицитной анемией, а также идиопатической тромбоцитопенической пурпурой [25, 49]. Таким образом, разнообразные клинические аспекты хеликобактерной инфекции являются гетерогенными и имеют широкий спектр патологических состояний, доказательная база которых пополняется данными как в плане патогенеза, так и клинических составляющих. «Американская ассоциация по борьбе с аутоиммунными заболеваниями» (AARDA — American Autoimmune Related Diseases Association) в 2014 г. составила список из 95 клинических состояний, связанных с *H. pylori* [11, 20] (табл. 1).

H. pylori, как и любой другой микроорганизм, обладает факторами вирулентности, с помощью которых возбудитель проникает в организм, размножается и обеспечивает подавление защитных сил организма (табл. 2).

К основным факторам вирулентности *H. pylori* относят фермент уреазу. Действие данного фермента обеспечивает создание комфортных значений pH для существования в кислой среде желудка, тем самым формируя условия для колонизации слизистой оболочки желудка с развитием хронического гастрита [28, 51, 56].

H. pylori действует на основные звенья иммунной системы человека, запуская так называемые адаптивные механизмы. В первую очередь здесь следует говорить о наличии молекулярной мимикрии. Суть данного явления состоит в том, что антигены *H. pylori* могут имитировать антигены человека, и это приводит к перекрестной реактивности антител, а также В- или Т-клеток в отношении возбудителя и клеток человека. Кроме этого, под действием *H. pylori* происходят нарушения в связке «Т-хелперы и дендритные клетки», что приводит к изменениям в гуморальном звене иммунного ответа, а это в свою очередь обуславливает нарушения в иммунной системе с последующим развитием аутоиммунных реакций. Таким образом, *H. pylori* можно рассматривать как триггер в формировании различной аутоиммунной патологии. Формами проявлений действия *H. pylori* в этом случае будут ревматические заболевания, включающие синдром Шегрена (СШ) и болезнь Шегрена, системную красную волчанку и прогрессирующий системный склероз, а также ревматоидный артрит. В научных публикациях отмечена связь между *H. pylori* и возникновением хронического атрофического гастрита на фоне наличия СШ, а также формирования В-лимфом и МАLT-лимфом желудка [50].

Существуют разные мнения по поводу влияния *H. pylori* на возникновение системной красной волчанки (СКВ). Известно, что в формировании СКВ аутоантител могут принимать участие именно иммунные процессы, которые запускаются данным возбудителем [22, 32]. В 2004 г. было проведено широкомасштабное исследование особенностей протекания инфекции, вызванной *H. pylori*, среди 466 пациентов с системной красной волчанкой, составляющих опытную группу, и респондентов аналогичной по количеству контрольной группы, у которых данная патология отсутствовала. Определена неравномерная распространенность случаев инфицирования *H. pylori* среди опытной и контрольной групп. Так, в опытной группе частота встречаемости *H. pylori* составила 38,1%, что было достоверно ниже, чем в контрольной группе (60,2%, $p = 0,0009$). Полученный результат позволяет рассматривать *H. pylori* при системной красной волчанке как протективный компонент [46].

Нарушения, приводящие к изменениям в гуморальном звене иммунной системы в виде отмеченной ранее молекулярной мимикрии, могут лежать в основе механизма развития системных иммунопатологических нарушений, что приводит к формированию синдрома Рейно и прогрессирующего системного склероза [26]. Японские исследователи определили, что *H. pylori* значительно чаще выявляется у больных прогрессирующим системным склерозом (ПСС), чем в популяции в целом. Однако европейские ученые (Danese S. и соавт.) установили иное: удельный вес инфицированных *H. pylori* среди пациентов с ПСС совпадал с частотой инфицированных среди лиц без данной патологии. Характерной чертой являлось наличие вирулентного штамма *CagA* у 90% пациентов с ПСС. Напротив, у больных без данной патологии этот штамм был обнаружен только в 37% случаев [21]. В ряде работ выявлена достоверная связь между особенностью течения ПСС и присутствием *H. pylori*. Установлено, что наличие *H. pylori* при прогрессирующем системном склерозе достоверно меньше отражается на развитии тяжелого рефлюкс-эзофагита (склеродермического эзофагита) [21, 41, 54, 57].

В многочисленных исследованиях изучалась роль *H. pylori* в возникновении синдрома Рейно. Результаты оказались крайне противоречивыми. Так, в одном исследовании выявлено, что после завершения курса лечения отмечено уменьшение выраженности синдрома Рейно у пациентов с *H. pylori*. В другом исследовании было установлено отсутствие связи между *H. pylori* и синдромом Рейно [23, 27, 45, 52].

Многочисленные исследования были посвящены изучению роли *H. pylori* в возникно-

Таблица 1. Аутоиммунные заболевания и ассоциированные с ними болезни, имеющие возможную связь с инфекцией *H. pylori*Table 1. Autoimmune and associated diseases possibly related to *H. pylori* infection

№ п/п No.	Заболевание Disease	№ п/п No.	Заболевание Disease
1	IgA-нефропатия IgA nephropathy	25	Гигантоклеточный миокардит Giant cell myocarditis
2	Связанные с IgG системные заболевания IgG related systemic diseases	26	Гипогаммаглобулинемия Hypogammaglobulinemia
3	Аксональная невропатия Axonal neuropathy	27	Глазной рубцующийся пемфигоид Ocular cicatricial pemphigoid
4	Антифосфолипидный синдром Antiphospholipid syndrome	28	Гломерулонефрит Glomerulonephritis
5	Аутоиммунная гемолитическая анемия Autoimmune hemolytic anemia	29	Демиелинизирующая невропатия Demyelinating neuropathy
6	Аутоиммунная гиперлипидемия Autoimmune hyperlipidemia	30	Дерматомиозит Dermatomyositis
7	Аутоиммунная крапивница Autoimmune urticaria	31	Диффузный токсический зоб Diffuse toxic goiter
8	Аутоиммунная нейтропения Autoimmune neutropenia	32	Другие васкулиты Other vasculitis
9	Аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура Autoimmune thrombocytopenic purpura	33	Идиопатическая воспалительная миопатия Idiopathic inflammatory myopathy
10	Аутоиммунный ангионевротический отек Autoimmune angioedema	34	Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура Idiopathic thrombocytopenic purpura
11	Аутоиммунный гепатит Autoimmune hepatitis	35	Идиопатический легочный фиброз Idiopathic pulmonary fibrosis
12	Аутоиммунный миокардит Autoimmune myocarditis	36	Интерстициальный цистит Interstitial cystitis
13	Аутоиммунный оофорит Autoimmune oophoritis	37	Кардиомиопатия Cardiomyopathy
14	Аутоиммунный панкреатит Autoimmune pancreatitis	38	Красный плоский лишай Lichen planus
15	Аутоиммунный полигландулярный синдром Autoimmune polyglandular syndrome	39	Лейкоцитокластический васкулит Leukocytoclastic vasculitis
16	Аутоиммунный тиреоидит Autoimmune thyroiditis	40	Линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз Linear IgA-dependent bullous dermatosis
17	Болезнь Бехчета Behcet disease	41	Микроскопический полиангиит Microscopic polyangiitis
18	Болезнь Крона Crohn disease	42	Миозит Myositis
19	Болезнь Шагаса Chagas disease	43	Нарколепсия Narcolepsy
20	Буллезный (пузырный) дерматоз Bullous (cystic) dermatosis	44	Неврит зрительного нерва Optic neuritis
21	Буллезный пемфигоид Bullous pemphigoid	45	Недифференцированное заболевание соединительной ткани Undifferentiated connective tissue disease
22	Гангренозная пиодермия Gangrenous pyoderma	46	Неспецифический язвенный колит Non-specific ulcerative colitis
23	Герпетиформный дерматит Dermatitis herpetiformis	47	Оптикомиелит (болезнь Девика) Opticomyelitis (Devic disease)
24	Гигантоклеточный артериит Giant cell arteritis	48	Оптиконеуромиелит Neuromyelitis optica

№ п/п No.	Заболевание Disease	№ п/п No.	Заболевание Disease
49	Острый поперечный миелит Acute transverse myelitis	73	Синдром Рейно Raynaud syndrome
50	Острый рассеянный энцефаломиелит Acute disseminated encephalomyelitis	74	Синдром Рейтера Reiter syndrome
51	Очаговая алопеция Alopecia areata	75	Синдром Шегрена Sjogren syndrome
52	Палиндромный ревматизм Palindromic rheumatism	76	Системная красная волчанка Systemic lupus erythematosus
53	Первичный билиарный цирроз Primary biliary cirrhosis	77	Системная склеродермия Systemic scleroderma
54	Первичный склерозирующий холангит Primary sclerosing cholangitis	78	Смешанное заболевание соединительной ткани Mixed connective tissue disease
55	Периферическая невропатия Peripheral neuropathy	79	Темпоральный артериит Temporal arteriitis
56	Периферический увеит Peripheral uveitis	80	Тиреоидит Хашимото Hashimoto thyroiditis
57	Пернициозная анемия Pernicious anemia	81	Тромбоцитопеническая пурпура Thrombocytopenic purpura
58	Полимиозит Polymyositis	82	Увеит Uveitis
59	Псориаз Psoriasis	83	Узелковый периартериит Periarteritis nodosa
60	Пузырчатка Pemphigus	84	Узловая эритема Erythema nodosum
61	Пурпура Шенлейна–Геноха Henoch–Schonlein purpura	85	Фиброзирующий альвеолит Fibrosing alveolitis
62	Рассеянный склероз Multiple sclerosis	86	Фибромиалгия Fibromyalgia
63	Реактивный артрит Reactive arthritis	87	Хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy
64	Ревматическая полимиалгия Polymyalgia rheumatica	88	Хронический рецидивирующий мультифокальный остеомиелит Chronic recurrent multifocal osteomyelitis
65	Ревматоидный артрит Rheumatoid arthritis	89	Целиакия Celiac disease
66	Рецидивирующий полихондрит Recurrent polychondritis	90	Экспериментальный аллергический энцефаломиелит Experimental allergic encephalomyelitis
67	Саркоидоз Sarcoidosis	91	Эозинофильный фасциит Eosinophilic fasciitis
68	Сахарный диабет I типа Type I diabetes mellitus	92	Эозинофильный эзофагит Eosinophilic esophagitis
69	Синдром Гийена–Барре Guillain–Barre syndrome	93	Ювенильный артрит Juvenile arthritis
70	Синдром Гудпасчера Goodpasture syndrome	94	Ювенильный диабет Juvenile diabetes
71	Синдром Кавасаки Kawasaki disease	95	Язва Мурена Mooren ulcer
72	Синдром Когана Kogan syndrome		

Таблица 2. Основные факторы вирулентности *H. pylori* и их функция (Kusters J.G. и соавт., 2006; Varbanova M. и соавт., 2014)Table 2. The main factors of *H. pylori* virulence and their function (Kusters J.G. et al., 2006; Varbanova M. et al., 2014)

Фактор вирулентности Virulence factor	Основная функция патогенеза Main function of pathogenesis	Триггерная роль Trigger role
OipA	Адгезия, воспаление Adhesion, inflammation	Гастрит Gastritis
BabA/B	Адгезия Adhesion	ЯБ, РЖ Peptic ulcer, stomach cancer
SabA	Адгезия Adhesion	Гастрит Gastritis
UreA/B	Колонизация Colonization	Гастрит Gastritis
CagA	Дезорганизация плотных контактов эпителиоцитов, индукция провоспалительных цитокинов Disorganization of tight junctions of epithelial cells, induction of pro-inflammatory cytokines	Гастрит, ЯБ, РЖ, MALT-лимфома желудка Gastritis, peptic ulcer, stomach cancer, MALT stomach lymphoma
VacA	Вакуолизация и апоптоз эпителиоцитов Vacuolization and apoptosis of epithelial cells	ЯБ, РЖ Peptic ulcer, stomach cancer
IceA	Воспаление Inflammation	ЯБ Peptic ulcer

вении ревматоидного артрита (РА) и дальнейшем его прогрессировании. Следует отметить, что ревматоидный артрит относится к группе хронических аутоиммунных ревматических заболеваний. При данном заболевании отмечаются воспалительные процессы в соединительной ткани с дальнейшим развитием деструктивных изменений в суставах, а также проявлениями вне суставов [8, 9, 10]. Исходом РА является ухудшение качества жизни и инвалидизация на ранних сроках. Определение этиологической составляющей в процессе возникновения РА является весьма актуальной проблемой и требует всестороннего изучения. Основными направлениями здесь должны быть как изучение генетических составляющих, так и определение разнообразных инфекционных факторов, которые могут запускать процессы иммунного воспаления и каскады иммунологических нарушений. По данным разнообразных исследований, *Helicobacter pylori* все чаще рассматривается как триггер, запускающий иммунопатологический процесс с образованием многообразного спектра цитокинов. Японские исследователи Yamanishi S. и соавт. подтвердили наличие связи между инфицированием *H. pylori* и дальнейшим развитием аутоиммунной патологии, а именно тромбоцитопенической пурпуры [54]. Аналогичные результаты получены и в исследовании Kobayashi F. и соавт. В последней работе были подробно описаны патогенетические механизмы активации клеточного звена иммунитета под действием фермента уреазы *H. pylori* [30]. Фермент уреазы расположен на поверхности *H. pylori*, что облегчает его рас-

познавание рецептором TLR2 иммунных клеток. После распознавания происходит запуск синтеза провоспалительных цитокинов и дальнейшая стимуляция В-лимфоцитов. Данный процесс приводит к формированию и накоплению аутоантител и дальнейшему возникновению аутоиммунных процессов. Развитие такого заболевания, как гастрит, на фоне инфицирования *H. pylori* связано с изменением уровня концентрации IL-32 и цитокинов в сторону повышения, что может быть причиной развития РА [44]. Ученые из Израиля провели сравнительный анализ содержания антител к *H. pylori* среди пациентов с РА (опытная группа) и здоровых лиц (контрольная группа). Получены сопоставимые (80,4 и 80,7% соответственно) показатели содержания антител в этих группах [35]. В научном исследовании специалистов из Китая был проведен анализ особенностей течения РА и анкилозирующего спондилита у пациентов с наличием *H. pylori* и неинфицированных им. Установлено, что положительными на инфекцию *H. pylori* были 88% пациентов с РА и 90% с анкилозирующим спондилитом. Эти показатели достоверно выше (42%, $p < 0,01$), чем у пациентов без ревматической патологии. Аналогичные достоверные результаты ($p < 0,05$) были получены и в отношении активности РА (DASD28) и AC (BASDAI) [52]. Следует отметить, что необходимо и дальше проводить исследования по выявлению возможной связи между *H. pylori* и развитием РА.

В отношении развития атеротромбоза также предполагается влияние *H. pylori*. Для выяснения этого проведено исследо-

вание по уточнению различий в уровне некоторых биохимических показателей крови у пациентов с наличием и отсутствием *H. pylori*. Определялись такие показатели, как триглицериды и липопротеины высокой плотности, а также фибриноген и холестерин и некоторые другие [36, 42]. Получены неоднозначные результаты. Так, в отношении триглицеридов и липопротеинов высокой плотности определено достоверно значимое различие именно в группе пациентов, инфицированных *H. pylori*, по сравнению с лицами без инфицирования [36, 42]. При изучении содержания фибриногена и холестерина достоверных различий не выявлено [42]. Однако в совершенно другом научном исследовании по установлению роли данных биохимических показателей получены противоположные результаты [37, 38]. Так, обнаружено достоверно значимое увеличение концентрации фибриногена у пациентов, инфицированных *H. pylori*, по сравнению с группой без *H. pylori*. Напротив, в отношении холестерина, триглицеридов и VII фактора свертывания крови, проконвертина, не было выявлено достоверных различий [37, 38, 40]. Достоверные сведения получены в отношении свойств *H. pylori* усиливать агрегацию тромбоцитов и, как следствие, вызывать прокоагулянтную активность некоторых компонентов крови. В первую очередь это касается элементов адгезии (L- и P-селектинов), а также гликопротеина Ib и фактора Виллебранда [55].

В патогенетическом механизме атеросклероза и ишемической болезни сердца важную роль играют воспалительные процессы. Появление и увеличение содержания таких биомаркеров, как С-реактивный белок, уровень лейкоцитов и концентрация фибриногена, а также белков

теплового шока (heat shock proteins, Hsp) приводит к ухудшению течения и тем самым осложняет прогноз заболевания [15, 29]. Однако в одном исследовании не выявлено значимых различий в концентрации лейкоцитов и фибриногена у пациентов, инфицированных и неинфицированных *H. pylori* [37]. Увеличение концентрации белков теплового шока, таких как Hsp60 и Hsp65, при повышении содержания С-реактивного белка ассоциировалось с осложнением течения нестандартной стенокардии у больных и у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в недавнем времени. Связи между коронарной кардиопатией и TNF α определено не было [19] (рис. 1).

По данным Скворцовой Е.С. и соавт., определяется ассоциация между язвенной болезнью и наличием *H. pylori* в 60–70% случаев заболевания, а среди пациентов с туберкулезом легких — до 87,5% случаев. При длительной противотуберкулезной терапии *H. pylori* обнаруживали в 52,9% случаев. Основными причинами выявления *H. pylori* у больных туберкулезом, а также наличия состояния коморбидности туберкулеза и язвенной болезни могут быть общие факторы, а именно социально-экономические (неправильное питание, низкое социальное положение и т. д.), наличие генетической предрасположенности (ассоциация с HLA-DQ-серотипом, дефицит секреторного IgA). Также было установлено, что среди пациентов с инфильтративным туберкулезом легких в 20,5% случаев регистрировалась язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки. Кроме того, язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки встречалась примерно в 20% случаев у пациентов с ВИЧ-инфекцией на стадии первичных проявлений и с наличием



Рисунок 1. Потенциал комплексной коморбидности *H. pylori*

Figure 1. Potential of complex comorbidity of *H. pylori*

инфильтративного туберкулеза легких. Следует отметить, что все эти случаи можно рассматривать как комплексную коморбидность. Наличие соматической патологии на фоне двух инфекционных заболеваний однозначно меняет и клиническую картину всех нозологических форм. Выявлено, что начало проявлений туберкулеза было малосимптомным с доминированием астении, наличием кишечной и желудочной диспепсии, у пациентов с туберкулезом отмечалась также более значимая потеря в весе и менее выраженные деструктивные изменения в легких по сравнению с пациентами с ВИЧ-инфекцией. В целом авторы отметили, что прослеживалась связь между инфицированием *H. pylori* и язвенной болезнью желудка или двенадцатиперстной кишки в 62,5% случаев у пациентов с диагнозом «инфильтративный туберкулез легких» и в 58,7% случаев у пациентов с одновременным наличием ВИЧ-инфекции на стадии первичных проявлений и туберкулеза легких. У пациентов с язвенной болезнью и инфильтративным туберкулезом без инфицирования *H. pylori* клиническое течение и прогноз заболевания был более неблагоприятным, чем при наличии *H. pylori*. Таким образом, *H. pylori* следует рассматривать как этиологический фактор развития язвенной болезни желудка или двенадцатиперстной кишки [16].

Следует отметить, что у всех пациентов, инфицированных *H. pylori*, формируется ХГ, и в 80% случаев течение данного заболевания проходит бессимптомно [33]. Установлено, что у инфицированных *H. pylori* пациентов риск формирования ЯБ варьирует от 10 до 20%, риск РЖ составляет 1–2%, а MALT-лимфомы желудка — 0,1% [31, 39]. Вероятность формирования гастродуоденальных заболеваний может зависеть от характеристик возбудителя, а именно его вирулентности, генетических особенностей макроорганизма и внешних факторов (рис. 2).

Многими исследователями рассматривается наличие возможной связи между *Helicobacter pylori* и рядом патологий почек. Данное триггерное влияние характеризуется IgA-нефропатией и связано с отложением полимеризованного IgA1 в мезангии почек. Считается, что иммуноглобулин IgA1 имеет костномозговое происхождение и не рассматривается как итог работы иммунной системы слизистых оболочек. Сравнительный анализ распространения *H. pylori* у больных IgA-нефропатией и у пациентов без данной патологии выявил достоверное преобладание уровня антихеликобактерных иммуноглобулинов IgA и IgG в первой группе. Отмечено, что пациенты с IgA-нефропатией, по сравнению с контрольной группой, отлича-

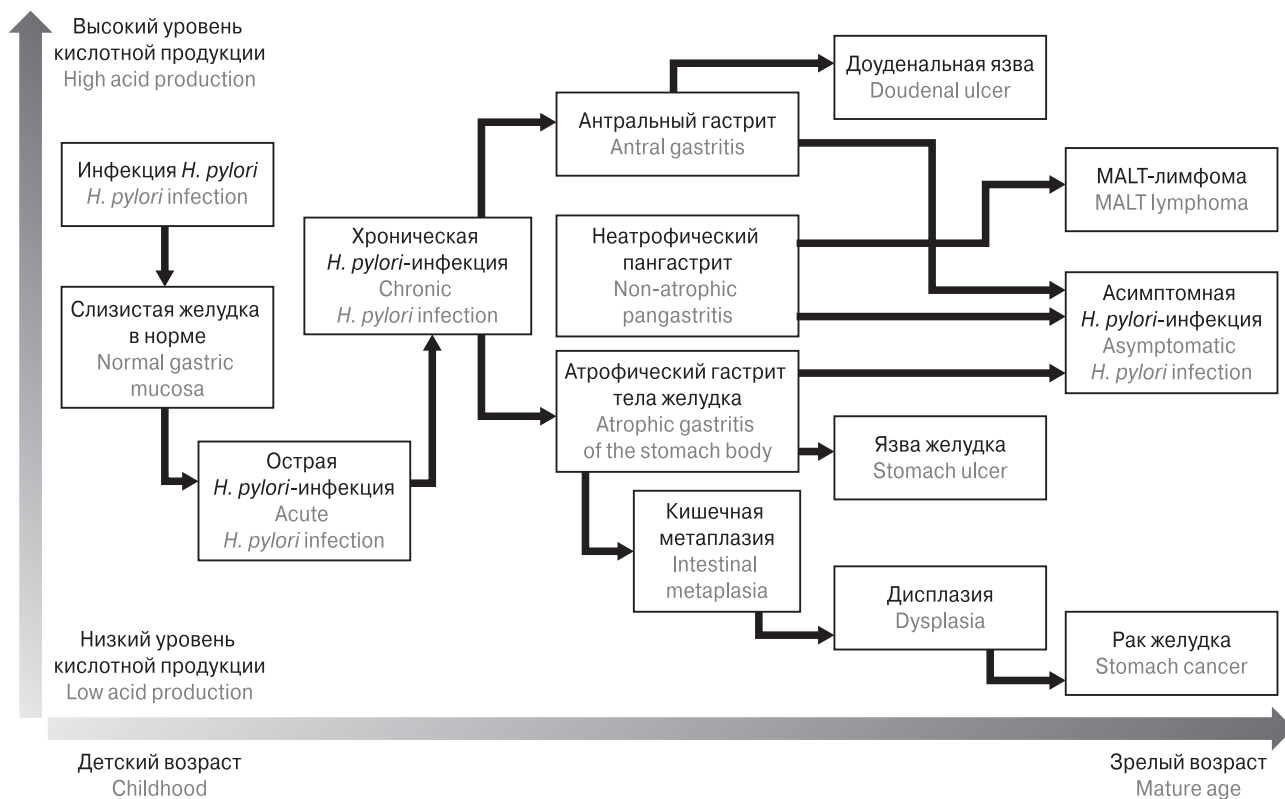


Рисунок 2. Виды гастродуоденальных заболеваний, ассоциированных с инфекцией *H. pylori* (Suerbaum S., Michetti P., 2002)

Figure 2. Types of gastroduodenal diseases associated with *H. pylori* infection (Suerbaum S., Michetti P., 2002)

лись наличием диагностически значимых титров антигеликобактерных иммуноглобулинов IgA с преобладанием IgA1. Также определено наличие антигена *H. pylori* в клубочках нефронов у пациентов с IgA-нефропатией, что однозначно подтверждает связь данного заболевания с *H. pylori* [41].

Интересным является факт связи различных инфекционных заболеваний, в первую очередь паразитарных инвазий, с развитием крапивницы. Установлено, что важным этиологическим фактором данного заболевания является инвазия желудочно-кишечного тракта паразитами. В некоторых исследованиях выявлено до 70% паразитарных инвазий при различных формах течения крапивницы. Наличие симптомов крапивницы отмечалось при вирусных гепатитах и герпесвирусных инфекциях (при инфицировании вирусом герпеса человека 4 типа и цитомегаловирусом), а также при ОРВИ (грипп, парагрипп) [3, 4, 6].

Сочетание инфицирования *H. pylori* и стрептококками группы А имеет место и при хронической крапивнице (ХК). Однако следует отметить, что этиология хронической крапивницы в 70–90% случаев остается не до конца раскрытой. Хеликобактерная инфекция характеризуется некоторой связью с формированием хронической крапивницы, и доказательством этого является уменьшение клинических симптомов течения заболевания после эрадикации возбудителя [14]. Отмечались достоверные

различия в уровне инфицирования *H. pylori* у пациентов с идиопатической крапивницей хронического течения и аллергической крапивницей (73,9 и 56,5% случаев соответственно, $p < 0,05$). Также в этих группах встречался и ХГ с частотой 43,5% у пациентов с идиопатической крапивницей и в 54,3% случаев у больных с крапивницей аллергического генеза ($p > 0,05$), а также ЯБ желудка в 4,3 и 6,5% случаев ($p > 0,05$) и ЯБ ДПК в 8,7 и 13,1% случаев соответственно ($p > 0,05$) [14].

Имеются многочисленные сообщения о наличии связи инфицирования *H. pylori* с развитием аутоиммунной тромбоцитопении, эссенциальной железодефицитной анемии, мигрени, синдрома Рейно, аутоиммунного тиреоидита, токсикоза беременности, атопического дерматита, розацеи, алопеции [1]. Следует отметить, что спектр клинических симптомов, возникающих на фоне инфицирования *H. pylori*, разнообразен, и поэтому задачей является определение достоверной связи между инфицированием *H. pylori* и развитием того или иного патологического состояния.

Таким образом, исходя из данных многочисленных научных исследований, следует говорить о существенной роли *H. pylori* как триггера в возникновении соматической патологии, а также разнообразных видов комплексной коморбидности, и в первую очередь ХГ, ЯБ желудка и ДПК, МАЛТ-лимфомы, а также аденокарциномы желудка.

Список литературы/References

1. Балаболкин И.И. Бронхиальная астма у детей. М.: Медицина, 2003. 160 с. [Balabolkin I.I. Asthma in children. M.: Medicine, 2003. 160 p. (In Russ.)]
2. Белялов Ф.Н. Двенадцать тезисов коморбидности // Клиническая медицина. 2009. № 12. С. 69–71. [Belyalov F.N. Twelve theses of comorbidity. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*, 2009, no. 12, pp. 69–71. (In Russ.)]
3. Верткин Л.Л., Скотников А.С. Коморбидность // Лечащий врач. 2013. № 6. С. 66–69. [Vertkin L.L., Skotnikov A.S. Comorbidity. *Lechashchii vrach = Attending physician*, 2013, no. 6, pp. 66–69. (In Russ.)]
4. Камышникова Л.А., Ефремова О.А., Гусейнли Э.Г. Современный обзор: Helicobacter Pylori и риск развития ишемической болезни сердца // Научный результат. Медицина и фармация. 2016. Т. 2, № 3. С. 3–10. [Kamyshnikova L.A., Efremova O.A., Guseynli E.G. Modern review: Helicobacter pylori and the risk of coronary heart disease. *Nauchny rezul'tat. Meditsina i farmatsiya = Research Result. Medicine and Pharmacy*, 2016, vol. 2, no. 3, pp. 3–10. (In Russ.). doi: 10.18413/2313-8955-2016-2-3-3-10]
5. Камышникова Л.А., Макарян Б.С. Оценка соблюдения принципов здорового образа жизни в молодом возрасте и оценка риска сердечно-сосудистой патологии на примере студентов медицинского института // Научный результат. Медицина и фармация. 2015. № 2. С. 62–68. [Kamyshnikova L.A., Makaryan B.S. Assessment of compliance with the principles of a healthy lifestyle at a young age and assessment of the risk of cardiovascular pathology on the example of students of the Medical Institute. *Nauchny rezul'tat. Meditsina i farmatsiya = Research Result. Medicine and Pharmacy*, 2015, no. 2, pp. 62–68. (In Russ.)]
6. Маев И.В. Современные представления о заболеваниях желудочно-кишечного тракта, ассоциированных с Helicobacter pylori // Терапевтический архив. 2006. Т. 78, № 2. С. 10–15. [Maev I.V. Modern concepts of diseases of the gastrointestinal tract associated with Helicobacter pylori. *Therapeutic Archive*, 2006, vol. 78, no. 2, pp. 10–15. (In Russ.)]
7. Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Н.Г., Андреев Д.Н. Важные практические результаты и современные тенденции в изучении заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2012. Т. 4. С. 17–26. [Maev I.V., Samsonov A.A., Andreev N.G., Andreev D.N. Important practical results and current trends in the study of diseases of the stomach and duodenum. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2012, vol. 4, pp. 17–26. (In Russ.)]
8. Мазанкова Л.Н., Григорьев К.И. Инфекционные заболевания у детей: роль в возникновении соматической патологии // Детские инфекции. 2013. № 3. С. 3–8. [Mazankova L.N., Grigoriev K.I. Infectious diseases in children: the role in the occurrence of somatic pathology. *Detские инфекции = Children's Infections*, 2013, no. 3, pp. 3–8. (In Russ.)]

9. Мазанкова Л.Н., Захарова И.Н. Инфекционные аспекты соматической патологии у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2010. № 5. С. 8–12. [Mazankova L.N., Zakharova I.N. Infectious aspects of somatic pathology in children. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2010, no. 5, pp. 8–12. (In Russ.)]
10. Насонов Е.Л. Почему необходима ранняя диагностика и лечение ревматоидного артрита? // Русский медицинский журнал. 2002. Т. 10, № 22. С. 1009–1012. [Nasonov E.L. Why is early diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis necessary? *Rossiiskii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal*, 2002, vol. 10, no. 22, pp. 1009–1012. (In Russ.)]
11. Плахова А.О., Никитина Е.С., Сорочкая В.Н., Каратеева А.Е. Helicobacter pylori как триггерный и отягочающий фактор при ревматоидном артрите и других ревматических заболеваниях // Современная ревматология. 2017. Т. 11, № 2. С. 60–67. [Plakhova A.O., Nikitina E.S., Sorotskaya V.N., Karateeva A.E. Helicobacter pylori as a trigger and aggravating factor in rheumatoid arthritis and other rheumatic diseases. *Sovremennaya revmatologiya = Modern Rheumatology Journal*, 2017, vol. 11, no. 2, pp. 60–67. (In Russ.)] doi: 10.14412/1996-7012-2017-2-60-67
12. Рассохин В.В., Бобрешова А.С. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. Эпидемиология, клиника и современные стратегии. Тяжелые и коморбидные формы ВИЧ-инфекции // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2017. Т. 9, № 4. С. 106–110. [Rassokhin V.V., Bobreshova A.S. HIV infection and immunosuppression. Epidemiology, clinic and modern strategies. Severe and comorbid forms of HIV infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2017, vol. 9, no. 4, pp. 106–110. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2017-9-4-106-110
13. Савилов Е.Д., Колесников С.Н., Брико Н.И. Коморбидность в эпидемиологии — новый тренд в исследованиях общественного здоровья // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016. № 4. С. 66–75. [Savilov E.D., Kolesnikov S.N., Briko N.I. Comorbidity in epidemiology — a new trend in public health research. *Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2016, no. 4, pp. 66–75. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-2016-4-66-75
14. Себекина О.В., Трубицына И.Е., Машарова А.А., Дьякова Э.Н. Клинические варианты хронической крапивницы, ассоциированной с Helicobacter pylori // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2011. № 5. С. 20–25. [Sebekina O.V., Trubitsyna I.E., Masharova A.A., Dyakova E.N. Clinical variants of chronic urticaria associated with Helicobacter pylori. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*, 2011, no. 5, pp. 20–25. (In Russ.)]
15. Симонова Ж.Г., Мартусевич А.К., Тарловская Е.И. Сочетанная кардиоваскулярная и гастродуоденальная патология. Киров, 2013. 132 с. [Simonova Zh.G., Martusevich A.K., Tarlovskaya E.I. Combined cardiovascular and gastroduodenal pathology. *Kirov*, 2013. 132 p. (In Russ.)]
16. Скворцова Е.С., Бородулина Е.А., Осадчук А.М. Инфильтративный туберкулез легких, язвенная болезнь желудка и ВИЧ-инфекция (коморбидность и мультиморбидность заболеваний) // Туберкулез и болезни легких. 2016. Т. 94, № 12. С. 62–66. [Skvortsova E.S., Borodulina E.A., Osadchuk A.M. Infiltrative pulmonary tuberculosis, gastric ulcer and HIV infection (comorbidity and multimorbidity of diseases). *Tuberkulez i bolezni legkih = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2016, vol. 94, no. 12, pp. 62–66. (In Russ.)]
17. Спичак Т.В. Облитерирующий бронхолит в детском возрасте — это болезнь или синдром? // Педиатрия. Журнал им. Г.М. Сперанского. 2016. Т. 95, № 4. С. 124–130. [Spichak T.V. Is bronchiolitis obliterans in childhood a disease or a syndrome? *Pediatriya. Zhurnal im. G.M. Speranskogo = Pediatrics. Journal named after G.M. Speransky*, 2016, vol. 95, no. 4, pp. 124–130. (In Russ.)]
18. Успенский Ю.П., Барышникова Н.В. Helicobacter pylori-ассоциированные заболевания: патогенез, особенности диагностики и дифференцированное лечение: учебно-методическое пособие. СПб.: СПбГМА, 2010. 64 с. [Uspensky Yu.P., Baryshnikova N.V. Helicobacter pylori associated diseases: pathogenesis, features of diagnosis and differentiated treatment: study guide. *St. Petersburg: St. Petersburg State Medical Academy*, 2010. 64 p. (In Russ.)]
19. Birnie D., Holme R., McKay I., Hood S., McColl K., Hillis W. Association between antibodies to heat shock protein 65 and coronary atherosclerosis: possible mechanism of action of Helicobacter pylori and other bacterial infections in increasing cardiovascular risk. *Eur. Heart J.*, 1998, vol. 319, pp. 387–394. doi: 10.1053/ehj.1997.0618
20. Brand P., Baraldi E., Bisgaard H., Boner A.L., Castro-Rodriguez J.A., Custovic A., de Blic J., de Jongste J.C., Eber E., Everard M.L., Frey U., Gappa M., Garcia-Marcos L., Grigg J., Lenney W., Le Souef P., McKenzie S., Merkus P.J., Midulla F., Paton J.Y., Piacentini G., Pohunek P., Rossi G.A., Seddon P., Silverman M., Sly P.D., Stick S., Valiulis A., van Aalderen W.M., Wildhaber J.H., Wennergren G., Wilson N., Zivkovic Z., Bush A. Definition, assessment and treatment of wheezing disorders in preschool children. *Eur. Respir. J.*, vol. 32, no. 4, pp. 1096–1110. doi: 10.1183/09031936.00002108
21. Danese S., Zoli A., Cremonini F., Gasbarrini A. High prevalence of Helicobacter pylori type I virulent strains in patients with systemic sclerosis. *J. Rheumatol.*, 2000, vol. 27, no. 6, pp. 1568–1569.
22. Francis L., Perl A. Infection in systemic lupus erythematosus: friend or foe? *Int. J. Clin. Rheumatol.*, 2010, vol. 5, no. 1, pp. 59–74.
23. Gasbarrini A., Massari I., Serricchio M., Tondi P., De Luca A., Franceschi F., Ojetti V., Dal Lago A., Flore R., Santoliquido A., Gasbarrini G., Pola P. Helicobacter pylori eradication ameliorates primary Raynaud's phenomenon. *Dig. Dis. Sci.*, 1998, vol. 43, no. 8, pp. 1641–1645. doi: 10.1023/a:1018842527111
24. Graff L.B., Andersen L.P., Gernow A., Bremmelgaard A., Bonnevie O., Bondesen S., Danneskiold-Samsøe B., Bartels E.M. Helicobacter pylori and rheumatoid arthritis. *J. Preclin. Clin. Res.*, 2007, vol. 1, pp. 68–73.
25. Hagymási K., Tulassay Z. Helicobacter pylori infection: new pathogenetic and clinical aspects. *World J. Gastroenterol.*, 2014, vol. 20, no. 21, pp. 6368–6399.
26. Hamamdžić D., Kasman L.M., LeRoy E.C. The role of infectious agents in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2002, vol. 14, no. 6, pp. 694–698. doi: 10.1097/00002281-200211000-00011
27. Herve F., Cailleux N., Benhamou Y., Ducrotté P., Lemeland J.F., Denis P., Marie I., Lévesque H. Helicobacter pylori prevalence in Raynaud's disease. *Rev. Med. Interne*, 2006, vol. 27, no. 10, pp. 736–741. doi: 10.1016/j.revmed.2006.07.003

28. Ihan A., Pinchuk I.V., Beswick E.J. Inflammation, immunity, and vaccines for Helicobacter pylori infection. *Helicobacter*, 2012, vol. 17, no. 1, pp. 16–21. doi: 10.1111/j.1523-5378.2012.00977.x
29. Ismael M.K., Al-Haleem M.R., Salman R.S. Evaluation of anti-Helicobacter pylori antibodies in A group of Iraqi patients with atherosclerosis and coronary artery disease. *Iraqi J. Sci.*, 2015, vol. 56, no. 1A, pp. 81–88.
30. Kobayashi F., Watanabe E., Nakagawa Y., Yamanishi S., Norose Y., Fukunaga Y., Takahashi H. Production of autoantibodies by murine B-1a cells stimulated with Helicobacter pylori urease through Toll-like receptor 2 signaling. *Infect. Immun.*, 2011, vol. 79, no. 12, pp. 4791–4801. doi: 10.1128/IAI.05808-11
31. Kusters J.G., van Vliet A.H.M., Kuipers E.J. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2006, vol. 19, no. 3, pp. 449–490. doi: 10.1128/CMR.00054-05
32. Magen E., Delgado J.S. Helicobacter pylori and skin autoimmune diseases. *World J. Gastroenterol.*, 2014, vol. 20, no. 6, pp. 1510–1516. doi: 10.3748/wjg.v20.i6.1510
33. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., Atherton J., Axon A.T., Bazzoli F., Gensini G.F., Gisbert J.P., Graham D.Y., Rokkas T., El-Omar E.M., Kuipers E.J.; European Helicobacter Study Group. Management of Helicobacter pylori infection — the Maastricht IV/Florence consensus report. *Gut*, 2012, vol. 61, no. 5, pp. 646–664. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302084
34. Marshall B.J., Warren J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 1984, vol. 1, no. 8390, pp. 1311–1315. doi: 10.1016/s0140-6736(84)91816-6
35. Meron M.K., Amital H., Shepshelovich D., Barzilai O., Ram M., Anaya J.M., Gerli R., Bizzaro N., Shoenfeld Y. Infectious aspects and the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2010, vol. 38, no. 2–3, pp. 287–291. doi: 10.1007/s12016-009-8158-6
36. Niemelä S., Karttunen T., Korhonen T., Läärä E., Karttunen R., Ikäheino M., Kesaniemi Y.A. Could Helicobacter pylori infection increase the risk of coronary heart disease by modifying serum lipid concentrations? *Heart*, 1996, vol. 75, no. 6, pp. 573–575.
37. Patel P., Carrington D., Strachan D.P., Leatham E., Goggin P., Northfield T.C., Mendall M.A. Fibrinogen: a link between chronic infection and coronary heart disease. *Lancet*, 1994, vol. 343, pp. 1634–1635. doi: 10.1016/s0140-6736(94)93084-8
38. Patel P., Ghetiya S., Missov E., Sattiraju S. A 3-dimensional transoesophageal echocardiography perspective of mitral valve abscess. *J. Geriatr. Cardiol.*, 2020, vol. 17, no. 2: 124. doi: 10.11909/j.issn.1671-5411.2020.02.009
39. Peek R.M., Crabtree J.E. Helicobacter infection and gastric neoplasia. *J. Pathol.*, 2006, vol. 208, pp. 233–248. doi: 10.1002/path.1868
40. Pellicano R., Fagoonee S., Rizzetto M., Ponzetto A. Helicobacter pylori and coronary heart disease: which directions for future studies? *Crit. Rev. Microbiol.*, 2003, vol. 29, no. 4, pp. 351–359. doi: 10.1080/713608015
41. Radic M., Kaliterna D.M., Bonacin D., Vergles J.M., Radić J., Fabijanić D., Kovačić V. Is Helicobacter pylori infection a risk factor for disease severity in systemic sclerosis? *Rheumatol. Int.*, 2013, vol. 33, no. 11, pp. 2943–2948. doi: 10.1007/s00296-012-2585-z
42. Regnström J., Jovinge S., Båvenholm P., Ericsson C.G., De Faire U., Hamsten A., Hellenius M.L., Nilsson J., Tornvall P. Helicobacter pylori seropositivity is not associated with inflammatory parameters, lipid concentrations and degree of coronary artery disease. *J. Int. Med.*, 1998, vol. 243, no. 2, pp. 109–113. doi: 10.1046/j.1365-2796
43. Ruggiero P. Helicobacter pylori infection: what's new. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 2012, vol. 25, no. 3, pp. 337–344. doi: 10.1097/QCO.0b013e3283531f7c
44. Sakitani K., Hirata Y., Hayakawa Y., Serizawa T., Nakata W., Takahashi R., Kinoshita H., Sakamoto K., Nakagawa H., Akanuma M., Yoshida H., Maeda S., Koike K. Role of interleukin-32 in Helicobacter pylori-induced gastric inflammation. *Infect. Immun.*, 2012, vol. 80, no. 11, pp. 3795–3803. doi: 10.1128/IAI.00637-12
45. Savarino V., Sulli A., Zentilin P., Raffaella Mele M., Cutolo M. No evidence of an association between Helicobacter pylori infection and Raynaud phenomenon. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2000, vol. 35, no. 12, pp. 1251–1254. doi: 10.1080/003655200453575
46. Sawalha A.H., Schmid W.R., Binder S.R., Bacino D.K., Harley J.B. Association between systemic lupus erythematosus and Helicobacter pylori seronegativity. *J. Rheumatol.*, 2004, vol. 31, no. 8, pp. 1546–1550.
47. Sorrentino D., Faller G., DeVita S., Avellini C., Labombarda A., Ferraccioli G., Kahlow-Toussaint S. Helicobacter pylori associated antigastric autoantibodies: role in Sjögren's syndrome gastritis. *Helicobacter*, 2004, vol. 9, no. 1, pp. 46–53. doi: 10.1111/j.1083-4389.2004.00197.x
48. Sulli A., Seriola B., Savarino V., Cutolo M. Lack of correlation between gastric Helicobacter pylori infection and primary or secondary Raynaud's phenomenon in patients with systemic sclerosis. *J. Rheumatol.*, 2000, vol. 27, no. 7, pp. 1820–1821.
49. Theander E., Nilsson I., Manthorpe R., Jacobsson L.T.H., Wadström T. Seroprevalence of Helicobacter pylori in primary Sjögren's syndrome. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2001, vol. 19, no. 6, pp. 633–638.
50. Thieblemont C., Bertoni F., Copie-Bergman C., Ferreri A.J., Ponzoni M. Chronic inflammation and extra-nodal marginal-zone lymphomas of MALT-type. *Semin. Cancer Biol.*, 2014, vol. 24, pp. 33–42. doi: 10.1016/j.semcancer.2013.11.005
51. Weeks D.L., Eskandari S., Scott D.R., Sachs G. A H⁺-gated urea channel: the link between Helicobacter pylori urease and gastric colonization. *Science*, 2000, vol. 287, pp. 482–485.
52. Wen H., Luo J., Li J., Li X. Helicobacterpylori infection in rheumatic diseases. *Arthr. Res. Ther.*, 2012, vol. 14, no. 1: P74. doi: 10.1186/ar3675
53. Weydig C., Starzinski-Powitz A., Carra G., Löwer J., Wessler S. CagA-independent disruption of adherence junction complexes involves E-cadherin shedding and implies multiple steps in Helicobacter pylori pathogenicity. *Exp. Cell. Res.*, 2007, vol. 313, no. 16, pp. 3459–3471. doi: 10.1016/j.yexcr.2007.07.015
54. Yamaguchi K., Iwakiri R., Hara M., Kikkawa A., Fujise T., Ootani H., Shimoda R., Tsunada S., Sakata H., Ushiyama O., Koarada S., Tada Y., Nagasawa K., Fujimoto K. Reflux esophagitis and Helicobacter pylori infection in patients with scleroderma. *Intern. Med.*, 2008, vol. 47, no. 18, pp. 1555–1559.
55. Yamanishi S., Iizumi T., Watanabe E., Shimizu M., Kamiya S., Nagata K., Kumagai Y., Fukunaga Y., Takahashi H. Implications for induction of autoimmunity via activation of B-1 cells by Helicobacter pylori urease. *Infect. Immun.*, 2006, vol. 74, no. 1, pp. 248–256. doi: 10.1128/IAI.74.1.248-256.2006

56. Yamaoka Y. Mechanisms of disease: Helicobacter pylori virulence factors. *Nature Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2010, vol. 7, no. 11, pp. 629–641. doi: 10.1038/nrgastro.2010.154
57. Yazawa N., Fujimoto M., Kikuchi K., Kubo M., Ihn H., Sato S., Tamaki T., Tamaki K. High seroprevalence of Helicobacter pylori infection in patients with systemic sclerosis: association with esophageal involvement. *J. Rheumatol.*, 1998, vol. 25, no. 4, pp. 650–653.

Авторы:

Сергеева А.В., к.м.н., доцент, зав. учебной микробиологической лабораторией кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет МЗ РФ, Нижний Новгород, Россия;

Шкарин В.В., член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор, профессор-консультант кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет МЗ РФ, Нижний Новгород, Россия;

Ковалишена О.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины, директор по науке НИИ профилактической медицины ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет МЗ РФ, Нижний Новгород, Россия.

Authors:

Sergeeva A.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Head of the Educational Microbiological Laboratory, Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine, Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod, Russian Federation; **Shkarin V.V.**, RAS Corresponding Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Consulting Professor of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine, Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod, Russian Federation; **Kovalishena O.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine, Science Director of the Research Institute of Preventive Medicine, Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

Поступила в редакцию 15.01.2021
Отправлена на доработку 12.07.2021
Принята к печати 03.11.2021

Received 15.01.2021
Revision received 12.07.2021
Accepted 03.11.2021

ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

Л.А. Бурова, Артем А. Тотолян

ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Стрептококковые заболевания и их осложнения являются одной из глобальных проблем международного здравоохранения. *S. pyogenes* (стрептококк серологической группы А — СГА) — патоген, вызывающий значительную заболеваемость в разных странах и разных возрастных группах населения, возникающую как спорадически, так и эпидемическими вспышками. Из-за неэффективной антибактериальной терапии или ее отсутствия у 3–5% людей, перенесших стрептококковую инфекцию, могут развиваться такие осложнения, как острая ревматическая лихорадка, ревматическое поражение сердца, острый постстрептококковый гломерулонефрит, а также инвазивные осложнения: некротизирующий фасциит и миозит, септицемии и синдром токсического шока, высоколетальные из-за быстрого развития процесса и системного поражения органов. По последним оценкам, ежегодно в мире регистрируется по меньшей мере 517 000 смертей из-за заболеваний, вызываемых *S. pyogenes*. Разнообразный арсенал факторов патогенности этого возбудителя проявляется сочетанными и последовательными реакциями в процессах колонизации микробом тканей, формирования очага инфекции и преодоления защитных механизмов хозяина. Их совокупность определяет патогенетические механизмы заболеваний стрептококковой этиологии. Факторы патогенности СГА можно разделить на ассоциированные с микробной клеткой, преимущественно с ее клеточной стенкой, и на внеклеточные — экстрацеллюлярные. Спектр активности стрептококковых факторов патогенности может быть достаточно широким (М-белки, пирогенные экзотоксины, суперантигены) или узким (сериновая и цистеиновая протеиназы, стрептокиназа). Исследования специфичности факторов патогенности, их свойств, взаимосвязей, регуляторных механизмов и конкретной функции в патологии являются задачей научного поиска, ведущего к пониманию всей сложности функциональной организации возбудителя в его взаимодействии с макроорганизмом. Необходим также комплексный подход в изучении патогенности стрептококков, поскольку факторы патогенности не проявляют себя изолированно и не всегда регулируются независимо. Во многих случаях регуляторы контролируют экспрессию более чем одного из них. Несмотря на то что *S. pyogenes* изучаются уже около 150 лет, до настоящего времени остается ряд нерешенных вопросов, связанных с их болезнетворностью. Некоторые факторы патогенности СГА нуждаются в более углубленном изучении, например эндо- β -N-ацетилглюкозаминидаза, аргининдеиминаза. Отдельного внимания требуют иммуноглобулин-деградирующие ферменты в связи с их возможным участием в генезе иммунопатологических процессов стрептококковой этиологии. В данном обзоре суммированы литературные данные о большинстве факторов патогенности *S. pyogenes* и их роли в инфекционном процессе.

Ключевые слова: *Streptococcus pyogenes*, структура клетки стрептококка, клеточно-ассоциированные факторы патогенности микроба, экстрацеллюлярные факторы патогенности микроба.

Адрес для переписки:

Бурова Лариса Александровна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12,
ФГБНУ Институт экспериментальной медицины.
Тел.: 8 (812) 234-05-42.
E-mail: lburova@yandex.ru

Contacts:

Larisa A. Burova
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Academic Pavlov str.,
12, Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 (812) 234-05-42.
E-mail: lburova@yandex.ru

Для цитирования:

Бурова Л.А., Тотолян Артем А. Основные факторы патогенности *Streptococcus pyogenes* // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 33–50. doi: 10.15789/2220-7619-MPF-1723

Citation:

Burova L.A., Totolian Artem A. Major pathogenicity factors of *Streptococcus pyogenes* // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 33–50. doi: 10.15789/2220-7619-MPF-1723

MAJOR PATHOGENICITY FACTORS OF *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

Burova L.A., Totolian Artem A.

Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Streptococcal diseases and their complications are among the global problems of international health. *S. pyogenes* (group A streptococci — GAS) is a pathogen that causes significant morbidity in different countries and different age groups of the population, occurring both sporadically and epidemically. Due to ineffective antibacterial therapy or its absence, 3–5% of people who have had streptococcal infection may develop complications such as acute rheumatic fever, rheumatic heart disease, acute post-streptococcal glomerulonephritis and invasive complications: necrotizing fasciitis and myositis, septicemia and toxic shock syndrome, highly lethal due to the rapid development of the process and systemic organ damage. According to recent estimates, at least 517 000 deaths occur annually in the world due to diseases caused by GAS. The diverse arsenal of pathogenic factors of this pathogen is manifested in a combination of joint or sequential reactions in the process of microbial colonization of tissue, formation of the focus of infection and overcoming the host's defense mechanisms. It is an important point in the process of studying the pathogenesis of diseases caused by these microbes. The pathogenic factors of GAS can be divided into extracellular and associated with the microbial cell, predominantly with its cell wall. The spectrum activity of pathogenicity factors can be quite wide (M proteins, pyrogenic exotoxins, superantigens) or limited (serine and cysteine proteinases, streptokinase). Information about the specificity of pathogenicity factors, their properties, relationships, regulation and specific function in pathology is the task of scientific, as well as complex researches, leading to understanding the pathogen-host interaction. An integrated approach to the investigation of GAS pathogenicity factors is needed to study the pathogenicity of streptococci, since pathogenicity factors do not manifest themselves in isolation and are not always independently regulated. In many cases, regulators control the expression of more than one of them. *S. pyogenes* has been studied for about 150 years, but a number of issues related to their pathogenicity remain unknown to this day. Some factors need more in-depth study: for example, endo- β -N-acetylglucosaminidase, arginine deiminase. Immunoglobulin-degrading enzymes require special attention due to their possible participation in the genesis of immunopathological processes of streptococcal etiology. This review summarizes the literature data about most of the pathogenicity factors of *S. pyogenes* and their role in the infectious process.

Key words: *Streptococcus pyogenes*, *streptococcal cell structure*, *cell-associated pathogenic factors*, *extracellular pathogenic factors*.

Стрептококки серологической группы А (СГА), *Streptococcus pyogenes*, — большая группа грампозитивных, β -гемолизирующих бактерий, обладающих группоспецифическим А-полисахаридом, в которую входят штаммы более чем двухсот серотипов, подразделяемых по наличию типового антигена — М (Emm) белка — базового фактора патогенности микроба. Таксономическую ценность для *S. pyogenes* имеют комплексы Т-антигенов и фактор опалесценции (OF), обладающий типовой специфичностью. Типовая принадлежность штаммов по OF полностью согласуется с их М-типом. За последние годы интерес к Т- и OF-антигенам как критериям лабораторной диагностики стал незаслуженно ослабевать. Между тем OF-позитивные штаммы особенно широко распространены в странах с жарким климатом, и для их М-типирования в целях клинико-эпидемиологической диагностики можно с успехом пользоваться простым анти-OF-тестом.

СГА преимущественно заселяют верхние дыхательные пути, миндалины и кожу, вызывают гнойные поражения и осложнения различной локализации. Они являются возбудителями скарлатины, ангины, хронического тонзиллита, фарингита, синуситов и отита; вызывают стрептодермию, импетиго и рожистое воспаление; в силу инвазивности могут стать причиной некротизирующего фасциита и миозита,

септицемии и синдрома токсического шока, высоколетальных из-за быстрого развития процесса и системного поражения органов [16, 32, 40, 144]. Ведущая роль СГА отводится и в генезе постстрептококковых осложнений, таких как ревматическая лихорадка, острый гломерулонефрит, хорея и реактивный артрит [40]. Способность СГА вызывать ту или иную патологию зависит от «набора» патогенных признаков штамма-возбудителя и реакции иммунной системы организма-хозяина.

Факторы патогенности СГА подразделяют на ассоциированные с их клеточной стенкой и на внеклеточные продукты. На сегодняшний день описано более 40 факторов патогенности СГА [52]. Определению их роли в патологии служит накопленная информация о структурной и антигенной организации микробной клетки и о специфичности и активности ее компонентов. Безусловно, патогенность СГА является полифакторным признаком, который проявляется каскадом реакций в форме последовательных и опосредованных событий в системе паразит-хозяин и, соответственно, в действиях факторов агрессивности возбудителя и защитных механизмов макроорганизма [5]. Важным условием выявления патогенетической роли тех или иных факторов патогенности является адекватный подбор хозяина для *in vivo* моделирования процесса или его этапов, максимально прибли-

женных к естественной ситуации в организме человека. При этом очевидна условность любой модели, так как она зависит от биологических особенностей партнеров.

Структура стрептококковой клетки

В 1933 г. стрептококки впервые были подразделены на серогруппы на основании антигенных различий в специфичности полисахаридов — карбоксигидратных антигенов [93].

Стрептококковая клетка имеет сложную структуру (рис. 1, III обложка). Клеточная стенка четко дифференцирована от цитоплазматической мембраны, мозаична и содержит биологически важные антигены; она составляет $\frac{1}{5}$ часть веса клетки. Скелет клеточной стенки образован пептидогликаном и ковалентно связанными с ним тейхоевыми кислотами. Пептидогликан является полимером N-ацетил-глюкозамина и N-ацетил-мурамовой кислоты. Меньшая часть тейхоевой кислоты, связанная с мембраной, относится к липотейхоевой кислоте [163]. Со скелетом связаны белковые и полисахаридные компоненты клетки [90]. Эти данные указывают на важную роль клеточной стенки СГА в вызываемой патологии.

Многие штаммы СГА имеют капсулу из гиалуроновой кислоты [165, 167], она лишена антигенных свойств. Ее роль в патогенности микроба противоречива в интерпретации ряда авторов. Ранее было замечено, что мукоидность повышает вирулентность штаммов для мышей [155]. Поскольку мукоидные штаммы в значительной мере богаты как гиалуроновой кислотой, так и М-белком, трудно приписать капсуле независимую роль в вирулентности. Позже обнаружилось, что обработка гиалуронидазой повышает восприимчивость мукоидных штаммов к фагоцитозу [57, 146], а введение гиалуронидазы мышам снижает вирулентность СГА при экспериментальной инфекции [86]. Эпидемиологические наблюдения также указывали на связь капсулы с вирулентностью — мукоидные штаммы определили вспышки ряда инвазивных инфекций и ревматической лихорадки [152, 158]. Генетические технологии позволили уточнить патогенетическую роль капсулы и показать, что мутации (транспозоновый мутагенез) приводят к потере *hasA*-гена, контролирующего синтез гиалуроновой кислоты, и к снижению вирулентности для мышей [166]. Мутанты, дефицитные по капсуле, оказались более чувствительными к опсонофагоцитозу лейкоцитами по сравнению с родительскими штаммами. Считается, что устойчивость СГА к фагоцитозу — базовый механизм, которым капсула повышает вирулентность. Предполагается, что капсула пре-

пятствует связи рецепторов опсонизирующих белков комплемента на лейкоцитах с клетками бактерий [44]. Анализ серийных изолятов из зева инфицированных макаков со временем стал выявлять мутации в опероне или промоторе гена *hasA*, подавляющие синтез капсулы [137]. Мутанты колонизировали ткань с той же эффективностью, что и родительский штамм, но ее «очищение» происходило быстрее [10]. Подобные мутации выявлены и в штаммах СГА от человека [56]. Эти данные допускают более или менее длительное носительство СГА в зева при сниженной регуляции синтеза гиалуроновой кислоты. Было показано, что капсула подавляет адгезию СГА к клеткам эпителия [74]. В присутствии белка CD44 капсула может участвовать в адгезии за счет связывания этого белка с гиалуроновой кислотой. CD44 выявляют на разных типах эукариотических клеток, включая фарингеальные кератиноциты [136]. Активность CD44 как рецептора для бактерий доказана в опытах по снижению колонизации глотки мышей после интраназального введения моноклональных антител к CD44 [41]. Связывание капсулы с CD44 на кератиноцитах человека вызывает в них цепную реакцию, нарушающую межклеточные соединения и приводящую к проницанию СГА через эпителиальный барьер и к инвазии подлежащих тканей [42].

Клеточно-ассоциированные факторы патогенности СГА

Из числа факторов патогенности, ассоциированных с клеточной стенкой СГА, основным является М-белок [53]. Именно он определяет типоспецифичность иммунитета к СГА и обеспечивает их устойчивость к фагоцитозу, а также размножение в крови при отсутствии в ней анти-М-антител, продукция которых служит ответом организма на СГА-инфекцию [54, 58, 94]. Антифагоцитарность М-белков связана с их способностью подавлять отложение комплемента на поверхности бактерий [25, 26, 80, 154, 170] за счет взаимодействия с высокомолекулярным плазменным белком, блокирующим классический путь активации комплемента [25]. Но поскольку не все М-протеины связывают этот белок [26], функцию ингибитора депозиции комплемента может выполнять фибриноген [26]. Помимо устойчивости к фагоцитозу, М-белок активно участвует в адгезии бактерий [54] и на сегодня считается основным адгезином *S. pyogenes*. Изучение адгезии на клеточных линиях глотки, миндалин и кожи дали основную информацию о роли М-белка на начальных этапах инфицирования ротовой полости и кожи [133].

Долгие годы считалось, что все штаммы СГА синтезируют только один М-белок [94]. Однако последующие работы [75, 76, 169] показали, что они одновременно синтезируют от одного до трех сходных по структуре белков, обозначаемых как Emm (*emm*), Mgr (*mrp*) и Enn (*enn*), выделенные в семейство М-протеинов. В скобках дано обозначение соответствующего гена.

М-протеины как факторы патогенности СГА, ответственные за устойчивость к фагоцитам и синтез протективных антител, впервые обнаружены в 1920 г. R.C. Lancefield [94]. Белки М-семейства имеют фибриллярную структуру; фибриллы размером 50–60 нм расположены на поверхности бактерий. Молекулы М-белков имеют альфа-спиральную суперспирализованную структуру [55, 127] и могут агрегироваться в димеры [27]. Синтез М-белков кодируют гены Mga-регулона (Multiple gene regulator of group A streptococci) [68, 128]. Важным свойством молекул М-белков является их способность связывать белки плазмы человека: иммуноглобулины G и A (Fc-связывание), фибриноген, фибронектин, кининоген, альбумин, плазминоген, C4b-связывающий белок (C4BP), фактор-H, и другие фракции комплемента. Очевидно, что

взаимодействие М-протеинов с белками плазмы играет важную роль в генезе СГА-инфекций, влияя на устойчивость бактерий к фагоцитозу, его адгезивные и инвазивные свойства (табл., рис. 2, III обложка).

Способность микробов неиммунно связывать Fc-фрагмент иммуноглобулинов человека и млекопитающих впервые была обнаружена у *Staphylococcus aureus*, синтезирующего белок А [59]. Позже подобный феномен был обнаружен у стрептококков. Показано, что миеломный IgG всех четырех подклассов связывается с клетками бактерий серогрупп А, С и G [91]. Их Fc-рецепторы различаются по связыванию IgG разных видов млекопитающих и разных подклассов IgG человека, что позволило дополнительно к I типу Fc-рецепторов (протеин А стафилококка) ввести ряд типов стрептококковых Fc-рецепторов [109]. Тип II Fc-рецепторов обнаружен у СГА; они взаимодействуют с IgG подклассов 1, 2, 3 и 4 человека и с поликлональными IgG кролика и свиньи. Тип III Fc-рецепторов характерен для штаммов серогрупп С и G, выделенных от человека (протеин G). Выявлена способность некоторых штаммов СГА связывать иммунные комплексы человека. Это касалось «неф-

Таблица. Способность белков М-семейства связывать белки плазмы человека

Table. The ability of M-family proteins to bind human plasma proteins

Белки плазмы человека как лиганды для М-протеинов Human plasma proteins as ligands for the M proteins	Биологическая функция данного взаимодействия The biological function of this interaction	Номер источника References
IgG-Fc	Микробная мимикрия, устойчивость к фагоцитозу, истощение комплемента, индукция синтеза анти-IgG-антител и образования иммунных комплексов, инициация аутоиммунного процесса в органах Microbial mimicry, resistance to phagocytosis, depletion of the complement, induction of anti-IgG antibody production and immune complex formation, initiation of autoimmune process in internal organs	[5, 6, 24, 31, 91, 105, 134]
IgA-Fc	Устойчивость к фагоцитозу, участие в инициации IgA-нефропатии Resistance to phagocytosis, participation in the IgA-nephropathy initiation	[2, 47, 105, 135]
Фибриноген Fibrinogen	Устойчивость к фагоцитозу Resistance to phagocytosis	[26, 170]
Фибронектин Fibronectin	Адгезия и инвазия Adhesion and invasion	[69, 133, 153]
Плазминоген Plasminogen	Пенетрация в ткань Tissue penetration	[18, 88, 149, 162]
Альбумин Albumin	Устойчивость к фагоцитозу Resistance to phagocytosis	[60]
Кининоген Kininogen	Индукция иммунного воспаления Induction of immune inflammation	[72]
C4b-связывающий белок C4b-binding protein (C4BP)	Устойчивость к фагоцитозу путем подавления депозиции комплемента Resistance to phagocytosis by suppressed complement deposition	[15, 105, 154]
Фактор H Factor H	Устойчивость к фагоцитозу Resistance to phagocytosis	[60, 105, 133]

ритогенных» штаммов серотипов M12 и M49, выделенных от больных постстрептококковым гломерулонефритом [31, 134]. Fc-рецепторы типа IV характерны для стрептококков группы G, вызывающих инфекцию у крупного рогатого скота, а тип V выявлен у *Streptococcus zooepidemicus* [109]. Возможно, IgG-Fc-рецепторная активность штаммов именно группы A, связанная с их способностью вызывать заболевания человека, выработана в течение длительной эволюции и в условиях паразитирования.

Ранее считалось, что M-белки и Fc-связывающие белки являются отдельными группами молекул. В настоящее время показано, что обе группы протеинов характеризуются высокой степенью гомологии, и их синтез регулируется общими генами Mga-регулона [71]. Это позволяет отнести их к семейству M-белков или M-подобных белков. Изучение взаимодействия M-белков с IgG актуально, поскольку оно может привести к дисбалансу сывороточных белков в организме и к нарушению гомеостаза, особенно при хронизации процесса [5]. IgG-Fc-связывание повышает вирулентность СГА, истощает систему комплемента и индуцирует синтез анти-IgG-антител, потенциально способных инициировать иммунокомплексный процесс, например, в почках и сердце [6, 24, 105].

У СГА был выявлен ген [122], кодирующий белок с молекулярной массой 66 kDa, названный стрептококковым лейциновым зиппер-белком (*Lzp*). Он экспрессируется на поверхности бактерий, но встречается и в культуральной жидкости. *Lzp* выявлен во всех штаммах СГА. Показано, что рекомбинантный *Lzp* связывает иммуноглобулины человека классов A, G и M. Авторы полагают, что *Lzp* в качестве нового иммуноглобулин-связывающего белка способен защитить бактерии, экранируя их от обнаружения иммунной системой хозяина.

Недавно изучалась роль IgA-Fc-связывающих белков СГА в индукции IgA-нефропатии [2, 96]. По мнению авторов, ее механизм связан с первоначальной депозицией в почках бактериального белка Agr — рецептора IgA [96, 135].

Из белков, определяющих патогенность СГА и связанных с клеточной стенкой, особый интерес представляет фермент C5a-пептидаза, инактивирующий C5a-компонент комплемента и подавляющий хемотаксис полиморфноядерных (ПМЯ) нейтрофилов [118, 168]. Удаление шести аминокислот с карбоксильного конца этого хемоаттрактанта лишает его способности связываться с нейтрофилами и активировать их. У стрептококков группы B C5a-пептидаза повышает адгезию бактерий за счет способности связывать фибронектин [13, 30].

Адгезия *S. pyogenes* на поверхности эпителия глотки и кожи представляет собой первый

важный шаг в инициации инфекционного процесса. Адгезия к клеткам человека — сложный процесс [38]. Рассматриваются два его этапа. На первом, опосредованном липотейхоевой кислотой, бактерии преодолевают электростатическое отталкивание; на втором этапе следует специфическое и необратимое связывание различных белковых и углеводных рецепторов ткани с поверхностными молекулами бактерий, преимущественно с M-белками. Адгезия и ее роль в патогенезе СГА-инфекций служит предметом ряда обзоров в последние годы [113, 133]. Большая их часть посвящена хорошо известным факторам адгезии, включая липотейхоевую кислоту, фибронектин-связывающие белки (белки F и Fba), протеин R28, белок H, коллаген-подобные белки, фактор опалесценции (OF-фактор) СГА [39, 69, 82, 98, 99, 143, 153, 171]. Из других факторов СГА, связанных с клеточной стенкой и участвующих в адгезии бактерий, следует назвать стрептококковую дегидрогеназу, известную как глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH) — многофункциональный гликолитический фермент [82]. Он связывает многочисленные белки хозяина, такие как плазминоген, ламинин и фибриноген. Поскольку эти белки широко представлены в организме человека, в том числе и в растворенном виде в плазме и других жидкостях организма, GAPDH может принимать участие в процессе микробной колонизации и/или при инфекциях, передаваемых через кровь.

Установлено, что в межмолекулярном взаимодействии между патогенными микроорганизмами и их хозяином решающую роль играют протеолитические механизмы. Так, например, СГА экспрессируют поверхностный белок GRAB с высоким сродством к α_2 -макроглобулину, доминирующему ингибитору протеиназ плазмы крови человека. Белок GRAB имеет характерные особенности поверхностно-прикрепленного белка грамположительных бактерий. Ген *grab* присутствует в большинстве штаммов СГА. Изогенный мутант *S. pyogenes*, лишенный белка GRAB, не связывает α_2 -макроглобулин и снижает вирулентность при внутрибрюшинном введении мышам. Обнаружено, что α_2 -макроглобулин, связанный с бактериальной поверхностью через белок GRAB, ингибирует активность протеиназ *S. pyogenes* хозяина, тем самым защищая детерминанты вирулентности от деградации [130].

К факторам патогенности СГА относится и фермент, гидролизующий аргинин — аргининдеиминаза (AD). Ее впервые выделили из экстракта клеток штамма Su, способного подавлять рост ряда трансформированных линий клеток [174], и назвали кислым глико-

протеином СГА (SAGP). Ген этого белка был клонирован в *E. coli* [85, 114]. Было показано, что SAGP синтезируют и некоторые другие штаммы *S. pyogenes*, а его аргининдеиминазная активность подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов человека [45]. Установлено, что данный фермент ассоциирован с клеточной стенкой СГА, между тем как у *S. suis* этот же фермент определялся в мембранной фракции клеток. Изучение АД не выявило в его структуре сигнальной последовательности, характерной для секреторных и мембранных белков [172]. По-видимому, накопление АД в очаге инфекции может происходить как благодаря распаду бактериальных клеток, так и в результате его секреции в окружающую среду. При этом клетки тканей и, в частности, иммунной системы будут испытывать действие АД, приводящее к истощению условно незаменимой протеиногенной аминокислоты — аргинина. Деpletion аргинина ведет к дефициту NO в ходе СГА-инфекции. Таким образом, АД способствует выживанию патогена при пониженной кислотности в очаге и в фаголизосомах благодаря накоплению NH_3 , а также в анаэробных условиях за счет генерации АТФ. На модели СГА-инфекции у мышей было показано, что в их крови наблюдается снижение концентрации аргинина вследствие активности АД. Показано, что метаболизм аргинина является важным звеном в работе клеток иммунной системы и в регуляции иммунного ответа. Основные исследования в этой области выполнены на мышах, хотя различия в регуляции метаболизма аргинина в клетках мыши и человека очевидны. Необходим поиск по изучению патогенетической роли АД в генезе СГА-инфекции и действия фермента на иммунную систему человека [3, 4].

В целом клеточная стенка СГА включает субстанции со специфическими функциями ферментативной активности, связывания и генерирования энергии. Белки клеточной стенки не имеют цитоплазматических доменов, поэтому маловероятно, чтобы связывание этих молекул тканевыми лигандами включало сигнал к активации генного продукта. Более вероятно, что связывание инициирует конформационный сигнал на поверхности клетки для выполнения определенной функции [53]. К примеру, СГА, инфицирующие ротовую полость и миндаины, связывают на своей поверхности содержащиеся в слюне иммуноглобулины и фибронектин. Их связывание вызывает конформационное событие, ведущее к инвазии бактерий в клетки эпителия. Энергия для этого может быть получена благодаря поверхностным гликолитическим ферментам, необходимым для синтеза АТФ.

Экстрацеллюлярные факторы патогенности СГА

Стрептококки группы А синтезируют многочисленные экстрацеллюлярные белковые продукты с патогенными свойствами. Их роль в патологии широко рассматривалась в зарубежной научной литературе [79, 131, 160].

Стрептококковые гемолизины. СГА секретируют два известных гемолизина — стрептолизина О (SLO) и S (SLS), способные разрушать клеточные мембраны в организме хозяина [40, 144, 145]. Роль других предполагаемых гемолизин в патологии, включая CAMP-фактор, еще предстоит определить.

Стрептолизин О (SLO) является цитотоксином, образующим поры в биомембранах. Его активность холестерин-зависима и высокочувствительна к кислороду. Подобные типы гемолизин встречаются у многих патогенов. Молекулярный вес SLO равен 69 kDa; структура данного гемолизина аналогична структуре других холестерин-зависимых цитолизин, но имеет отличия, связанные с организацией мембран, богатых холестерином [48]. У SLO имеется N-концевая область из 70 аминокислотных остатков, необходимая для транслокации в клетки хозяина другого продукта — никотинамиддинуклеотидазы [100]. SLO обладает кардиотропностью и усиливает воспаление в очагах инфекции [22, 131], а также вызывает агрегацию тромбоцитов/нейтрофилов, продукцию цитокина IL-1 β , что существенно в развитии воспаления и иммунного ответа [70]. Кроме того, SLO активирует ПМЯ-нейтрофилы человека [112], а также модулирует синтез цитокинов в моноцитах периферической крови человека [145]. В отличие от гемолизина SLS, он иммуногенен и вызывает образование антител, что часто используется для подтверждения перенесенной СГА-инфекции [138]. SLO высокотоксичен. Недавние опыты показали, что SLO вместе с М-белком может формировать функциональный эквивалент секреторной системы типа III, способствующий взаимодействию бактерий с клетками хозяина [100]. Эти белки лизируют эритроциты, Т-лимфоциты, нейтрофилы и тем самым затрудняют фагоцитоз бактерий. SLO способен разрушать эпителий в очаге, что приводит к распространению инфекции. Более того, SLO обладает свойствами суперантигена по признаку повышенного синтеза цитокинов [40, 145].

Стрептолизин S (SLS) обнаруживается в СГА, выращенных в присутствии сыворотки, что отражено в его названии. Он относится к белкам из семейства тиазол-оксазол-модифицированных микроцинов у патогенов с гемолитической активностью [108]. SLS устой-

чив к кислороду, образует гидрофильные поры в клетках иммунной системы и в лейкоцитах. Считается, что SLS действует через накопление белков в мембранах клеток, что вызывает образование пор и осмотический лизис клеток. SLS — пептид с низким молекулярным весом 2,7 kDa, лишенный иммуногенности из-за модифицированной структуры [43]. Тем не менее были получены антитела к его синтетическому аналогу, нейтрализующие гемолитическую активность SLS [43]. SLS не только цитотоксичен, но и участвует в воспалении и подавлении фагоцитоза [66]. SLS-дефицитные мутанты проявляют сниженную вирулентность по сравнению с исходными штаммами [79]. Мутанты, полученные искусственным путем, в отличие от естественных мутантов с делецией в опероне SLS, были способны поражать мягкие ткани [81], глотку и среднее ухо [175]. Оба стрептолизина, O и S, повышают вирулентность СГА, причем SLS повышает ее даже у инкапсулированного штамма [140].

СAMP-фактор S. pyogenes был идентифицирован при секвенировании генома штамма M1 [52]. Он, в сочетании со сфингомиелиназой С золотистого стафилококка, вызывает характерный лизис эритроцитов. Это свойство положено в основу СAMP-теста для дифференциации СГА от стрептококков других серогрупп, в частности *S. agalactiae* (СГВ) [79]. Рекомбинантные клоны *E. coli*, с геном *cfa*, секретируют активный СAMP-фактор — белок с молекулярным весом 28,5 kDa, состоящий из 257 аминокислот и сигнального пептида. Он выявлен в штаммах серогрупп А, В, С, G, М, Р, R и U [62]. У СГА его обнаружили в клинических изолятах, причем 82% тестируемых штаммов продуцировали СAMP-фактор, а 99% содержали его ген [62].

Никотинамиддинуклеотидаза (NADase) включает два функциональных домена: аминотерминальный, участвующий в транслокации фермента в клетки инфицированного хозяина, и карбоксильный концевой, выполняющий функцию фермента [65]. Функция NADase в генезе СГА-инфекции состоит в преодолении бактериями мембранных барьеров клеток с помощью SLO-опосредованного пути транслокации [64]. Попав в цитоплазму, фермент истощает пул никотинамиддинуклеотида [64, 173]. Кроме того, данному ферменту приписывается и цитотоксичность [104]. Какой-либо связи доменов NADase с конкретной СГА-патологией не выявлено [132]. В клетках человека NADase производит глубокие нарушения, повышающие вирулентность и выживание СГА [20, 124]. Показано, что изогенные мутанты с дефицитом SLO и NADase хуже родительских штаммов выживают в макрофагах, причем оба белка крайне

необходимы для устойчивости СГА к фагоцитозу макрофагами [11].

ДНКазы (DNAases). Известно, что СГА продуцируют четыре ДНКазы: А, В, С и D [79, 110]. Эти ферменты защищают бактерии от фагоцитоза нейтрофилами, разрушая их и приводя к распространению инфекции [21]. Экспрессируются ДНКазы, как правило, в процессе инфекции, поскольку антитела к этим белкам обнаруживаются у реконвалесцентов. В связи с этим их используют для постморбидной диагностики [28]. Противодействуя фагоцитозу, ДНКазы способствуют выживанию бактерий и проявлению их инвазивности [23, 32]. Значение ДНКаз в патологии подлежит дальнейшему исследованию.

Стрептокиназа (SKA) — белок, который продуцируют штаммы серогрупп А, С и G; он состоит из 414 аминокислотных остатков. В организме человека он обладает активностью, сходной с таковой двух белков-активаторов плазминогена, урокиназного и тканевого типов. Основная функция SKA состоит в преобразовании плазминогена в протеолитически активный плазмин. Плазминоген как ключевой компонент системы фибринолиза содержится в крови и в тканевых жидкостях. SKA действует не как фермент. Ее взаимодействие с плазминогеном вызывает конформационное изменение с формированием активного центра в комплексе «SKA–плазминоген». Внутри него происходит межмолекулярное расщепление плазминогена с образованием плазмина [18, 19]. Ген SKA из штамма группы С был клонирован и секвенирован [101]. Установлено, что кодируемая им SKA на 85% идентична SKA по аминокислотной последовательности [77]. Показано, что SKA состоит из трех доменов: α , β и γ [83, 162], разделенных гибкими спирализованными областями с N- и C-концов белка [162]. Изменения последовательности в β -доме делеят SKA на 2 кластера (SK1 и SK2); в SK2 различают последовательности SK2a и SK2b [83, 102, 177]. Штаммы, секретирующие SK2a, относятся к носоглоточным изолятам, в то время как SK2b секретируется кожно-тропическими штаммами [83, 177].

Взаимодействие SKA с системой активации плазминогена обычно рассматривается как механизм патогенности СГА [88, 150, 149, 161]. *S. pyogenes* не только продуцирует SKA для активации плазминогена в плазмин, но и вызывает оба белка на своей поверхности посредством таких компонентов как M-белки, глицеральдегид-3-фосфат и эндолаза [32, 79].

Образование плазмина в очаге инфекции приводит в действие матриксные металлопротеиназы хозяина, что сопровождается фибринолизом и деградацией внеклеточного матрикса

и базальных мембран, способствуя диссеминации СГА [149, 161]. Эти данные в сочетании с результатами ряда экспериментальных работ позволили выдвинуть идею о ведущей роли SKA и плазмиды в генезе острого постстрептококкового гломерулонефрита (APSGN) [115, 119].

Однако ряд авторов не подтверждают эту гипотезу [1, 5, 6, 120]. Версии о роли SKA в индукции APSGN противостоит другая, согласно которой иницирующим звеном в этом процессе служат анти-IgG-антитела и их иммунные комплексы с IgG хозяина, сформировавшиеся благодаря способности штамма-возбудителя неиммунно Fc-связывать иммуноглобулины [5, 6, 24]. Данная проблема нуждается в отдельном рассмотрении.

Играя важную роль в патогенности, SKA сама может стать мишенью другого фактора — цистеиновой протеиназы SPEB, продуцируемой тем же микроорганизмом [77].

Гиалуронидаза. СГА синтезируют две гиалуронидазы, кодируемые генами хромосомы и бактериофага соответственно [79]. Эти ферменты считаются факторами вирулентности на основании способности разрушать гиалуроновую кислоту — главный компонент экстрацеллюлярного матрикса различных тканей организма, тем самым способствуя распространению патогена, его белков и токсинов. Гиалуронидаза может также разрушать капсулу СГА. Возникает вопрос: почему микроорганизм вырабатывает как средство защиты (капсулу), так и фермент, способный уничтожить ее? Высказано неожиданное предположение, что гиалуронидаза может понижать вирулентность штаммов, которые вызывают инвазивные инфекции, делая их более восприимчивыми к фагоцитозу [78]. К примеру, штаммы серотипов M4 и M22, несмотря на потерю капсулы, сохранили патогенность и способность выживать в крови [56]. По-видимому, они могут запускать альтернативные пути поддержания вирулентности, и капсула им не нужна для колонизации тканей и развития инфекции, даже инвазивной [56]. На сегодняшний день нет доказательств прямой связи между активностью гиалуронидаз и конкретным заболеванием.

Пирогенные экзотоксины (SPE). Экзотоксины описаны у штаммов ряда серогрупп стрептококков; известны экзотоксины А (SPEA), В (SPEB), С (SPEС) и F (SPEF). Они обладают свойствами суперантигенов (sAgs), как и выделяемый СГА митогенный экзотоксин Z (SMEZ), играющий значительную роль в генезе скарлатины и синдрома токсического шока [40, 144]. Экзотоксин С участвует в развитии скарлатины [144]. Экзотоксины А и В способны вызывать продукцию провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 β и IL-6; как суперантигены они

стимулируют Т-клеточный ответ, приводящий к синтезу этих цитокинов [40].

Пирогенный эритрогенный токсин В (SPEB), или цистеиновая протеиназа, является одним из наиболее изученных факторов вирулентности СГА, но его роль в патологии еще полностью не определена [29, 111]. Ген протеиназы обнаружен у всех штаммов СГА, и он высококонсервативен [28, 176]. SPEB обладает широкой специфичностью и гидролизует ряд белков хозяина: компоненты внеклеточного матрикса, комплемента, цитокины и хемокины, иммуноглобулины, ингибиторы протеаз, а также белки самих бактерий [111]. Одна из ролей протеиназы в вирулентности связана со способностью повышать распространение бактерий и их продуктов в организме путем деградации тканевых структур. Было показано, что SPEB необходима бактериям для роста возбудителя в слюне [139] и для развития кожных инфекций [33, 147]. Она повышает вирулентность СГА при моделировании инфекционного процесса на мышах [33]. При их инфицировании *S. pyogenes* типа M1T1 выживание бактерий в локусе инфекции требует наличия SPEB [33]. SPEB также нарушает взаимодействие стрептококков с системой активации плазминогена человека и тем самым может подавлять распространение бактерий [33, 148]. Изучалась функция SPEB в качестве фермента, деградирующего IgG, IgA, IgM, IgD и IgE [34]. Эта функция SPEB проявляется как при СГА-инфекции, так и в условиях физиологической нормы [126]. Допускается участие SPEB в патогенезе APSGN [12]. Важно отметить, что активность SPEB противоречива: она индуцирует воспаление, но обладает и противовоспалительным свойством; она расщепляет иммуноглобулины, но ингибирует другие ферменты, разрушающие антитела; и, наконец, она одновременно активирует и ингибирует систему комплемента [111]. Очевидно, что SPEB — важное звено в генезе стрептококковой патологии.

Сериновая протеиназа (SpyСЕР). Данный фермент *S. pyogenes* способен специфически расщеплять и инактивировать хемокины ПМЯ-лейкоцитов [45], в частности хемокин CXCL-8/IL-8, важный для рекрутирования нейтрофилов в очаг инфекции [95, 179]. Эта специфичность делает SpyСЕР уникальной среди протеиназ СГА. SpyСЕР существует в двух формах — секретрируемой и клеточно-ассоциированной. СГА продуцирует ее в ФАЗЕ экспоненциального рота, и SpyСЕР содержится как в культуральной жидкости, так и в клеточной стенке [157]. Способ, которым протеиназа высвобождается из клеточной стенки, неизвестен.

Эстераза (SsE) является секретрируемым белком СГА, по-видимому, играющим важную роль в вирулентности и патогенезе кож-

ных, инвазивных инфекций и в системной диссеминации СГА, хотя ее роль нуждается в уточнении [178]. Она гидролизует фактор активации тромбоцитов — PAF, фосфолипидный медиатор, вырабатываемый клетками организма хозяина: эндотелием, макрофагами, нейтрофилами и эозинофилами. PAF опосредует индуцированный цитокином IL-12 хемотаксис NK-лимфоцитов, нейтрофилов, может вызвать миграцию нейтрофилов в эндотелий [97]. Описаны два варианта SsE: комплексы I и II; первый секретируют штаммы серотипов M1, M2, M3, M5, M6, M12 и M18, а второй — штаммы серотипов M4, M28 и M49. Оба комплекса идентичны на 98% по аминокислотной последовательности, но возможно их варьирование в пределах 37% [178]. Обнаружилась способность SsE подавлять мобилизацию нейтрофилов, что служит механизмом защиты бактерий от иммунной системы хозяина [97]. SsE, по видимому, находится под контролем двухкомпонентной регуляторной генетической системы CovR/CovS [178].

Стрептококковые суперантигены (Sags). Белки СГА со свойствами суперантигенов входят в семейство высокоэффективных митогенов. Они вызывают стимуляцию Т-лимфоцитов человека, что приводит к массивному высвобождению Т-клеточных медиаторов, провоспалительных цитокинов и к «цитокиновому шторму», характерному для синдрома токсического шока в случае инвазивных инфекций. В отличие от обычных белков, Sags связываются с антигенами гистосовместимости класса II (MHC); описано 11 суперантигенов *S. pyogenes* [129].

В 1924 г. Dick G.F. и соавт. идентифицировали токсин в фильтрах культур, выделенных от больных скарлатиной, названный «токсином скарлатины» [46]. Второй токсин, известный с 1934 г., назвали токсином В [129]. В 1960 г. был описан токсин С, также выделенный из культуры скарлатинозного штамма серотипа M18 [164]; токсины различались иммунологически, но обладали сходными свойствами: вызывали лихорадку, поражение подкожных сосудов с образованием кожной сыпи, эндотоксический шок, в силу чего были названы пирогенными экзотоксинами (SPE) А, В и С [89]. Токсигенность СГА связана с феноменом лизогении и трансдуцирующими бактериофагами. В 1980-х гг. гены токсинов клонировали в *E. coli* и *B. subtilis*, что позволило тщательнее изучить соответствующие белки без содержания в них примесей. Обнаружено, что SPEА идентичен митогену Т-клеток. Аналогичная функция Sag была установлена и для SPEС. Данные о стимуляции Т-клеток токсином SPEВ были оспорены, когда опыты с рекомбинантным токсином

не обнаружили у него какой-либо суперантигенной активности [63]. Кроме того, секвенирование гена *speB* из штамма M12 выявило его идентичность с геном протеиназы SCP [17]. Экзотоксин SPEF был идентифицирован позже, в 1994 г. [117]. Считается, что его митогенность, как и в случае с Spe-B, была обусловлена загрязнением проб, а сам SPEF оказался идентичен ДНКазе В [142]. В 1993 г. был описан Sag, обнаруженный в культуральной жидкости штамма типа M3 [107]. Еще один Sag, названный митогенным экзотоксином Z (SMEZ), обнаружили в 1997 г. в супернатанте культуры стрептококка типа M1 [84]. Он стал последним токсином СГА, идентифицированным традиционными методами до эры микробной геномики и новых технологий. Недавно предложена новая номенклатура для стрептококковых sAgs [37]. Введены новые обозначения, начиная с суперантигена SPEK [14] и продолжая обозначениями SPEL и SPEM для sAgs, описанных позже [141]. Названия SPEN, SPEO, SPEP введены для суперантигенов *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* [125].

Известно, что ряд заболеваний, вызываемых СГА (некротизирующий фасциит, синдром токсического шока, болезнь Кавасаки, псориаз, ревматическая лихорадка), патогенетически связывают с суперантигенами [129]. Исследования свидетельствуют о связи между генетическим фоном хозяина, в частности, полиморфизмом HLA-антигенов, и его восприимчивостью к инвазивным заболеваниям. Показано, что суперантиген SPEА стимулирует более высокие пролиферативные реакции, когда генетический фон хозяина представлен HLA-DQ-аллелью, по сравнению с аллелями HLA-DR1, HLA-DR4 или HLA-DR5, тогда как SPEС был более активен при аллельном фоне хозяина HLA-DR4 [116]. Более того, лица с гаплотипом HLA-DRB1*1501/DQB1*0602 проявляют сниженную реакцию на sAgs и менее склонны к развитию системных заболеваний по сравнению с лицами с нейтральными гаплотипами [116].

После более чем двух десятилетий интенсивных экспериментальных исследований вопрос о том, почему sAgs важны для бактерий, остается в значительной мере без ответа. Как указывалось выше, у *S. pyogenes* обнаружено 11 суперантигенов, и многие из них имеют аналоги в стрептококках других серогрупп. Все они имеют много общего в структуре и одни и те же рецепторы-мишени на клетках хозяина — главного комплекса гистосовместимости и Т-лимфоцитах. sAgs проявляют аллельную вариабельность; примером служит экзотоксин Z с более чем 50 вариантами, имеющими антигенные, а не функциональные различия,

что говорит в пользу того, что эволюция sAgs в основном вызвана иммунитетом хозяина.

Стрептококковый ингибитор комплемента (SIC) представлен белком с молекулярным весом 31 kDa. Он впервые обнаружен в штаммах стрептококков типа M1 [9, 60] и позже у других типов: M12, M55 и M57. SIC подавляет образование и функцию мембраноатакующего комплекса C5b-C9 комплемента [9, 50, 51] и, соответственно, ингибирует комплемент-зависимый лизис, а также активность антибактериальных белков иммунного ответа, обеспечивающих клиренс бактерий, в том числе лизоцима, α - и β -дефензинов [49, 60] и хемокина MIG/CXCL9 [47]. SIC может подавлять активность ингибитора лейкоцитарной протеиназы и некоторых антимикробных препаратов [106]. Способность «вмешиваться» в работу комплемента и иммунной системы хозяина указывает на то, что SIC может повышать вирулентность и диссеминацию бактерий [61]; этим SIC способствует их выживанию, адгезии и колонизации ткани [73].

Супероксиддисмутаза (SOD). *S. pyogenes* продуцирует металлопротеин супероксиддисмутаза; его функция состоит в превращении супероксидных анионов в кислород и перекись водорода [67]. SOD обнаруживается в основном в супернатантах культур [103]. Поскольку СГА негативны по каталазе, SOD играет жизненно важную роль в детоксикации продуктов окислительного взрыва, осуществляемого лейкоцитами хозяина. Одновременно СГА выделяют глутатионпероксидазу (GPx), которая повышает выживаемость бактерий при окислительном стрессе [92].

Иммуноглобулин-деградирующий фермент (IdeS/Mac). *S. pyogenes* является цистеиновой протеиназой, специфически расщепляющей шарнирную область IgG [8, 159]. Он также известен как Mac-1, Sib35 и MspA [160]. Протеиназа активна в отношении Fab-, но не Fc-связанных молекул IgG, что помогает бактериям противостоять фагоцитозу и цитотоксичности со стороны иммунной системы [147]. Ферменту Mac-1 противодействует другой фермент, IgG-эндопептидаза, или Mac-2, которая предотвращает распознавание IgG, Fab-связанного с *S. pyogenes*, и конкурентно блокирует IgG от распознавания Fc-рецепторами клеток хозяина [7]. IdeS/Mac и его гомологи распространены среди СГА, что позволяет предположить их участие в выживании бактерий.

Белок Sib35 присутствует в большинстве штаммов СГА, но не у стрептококков других серогрупп [87]. Его молекулярный вес равен 35 kDa; он связывает иммуноглобулины G, A и M и имеет сходство с ферментом, деградирующим IgG [121]. Кроме того, Sib35 вызывает пролиферацию В-лимфоцитов и дифференциацию

плазматических клеток в продуцирующие иммуноглобулин [123]. Мыши, которым вводили Sib35, при инфицировании культурой проявляли повышенную выживаемость по сравнению с контролем [121]. Лица с СГА-инфекцией имели более высокий титр антител к Sib35, чем здоровые, что говорит об иммуногенности данного секреторного белка. Его роль в патологии остается неясной.

Эндо- β -N-ацетилглюкозаминидаза (EndoS) является крупным (108 kDa) эндоглюкозидазным ферментом, деградирующим IgG посредством гидролиза, аспарагин-связанного гликана тяжелой цепи IgG человека, нарушая тем самым структурную стабильность молекулы антитела [34, 35, 36, 156, 160]. Фермент повышает выживаемость бактерий за счет связывания IgG с их Fc-рецепторами и нарушения активации комплемента, что также защищает СГА от фагоцитоза [36]. EndoS обнаружен исключительно у штаммов типов M1 и M49. Недавно описана кристаллическая структура EndoS [156]. Понимание структуры белка поможет определить потенциальные ингибиторы его активности, которые могут быть использованы с целью терапии в связи с возможной ролью EndoS в модуляции иммунной системы хозяина при инфекциях, вызванных штаммами серотипа M49 [156].

Заключение

Заболевания, вызываемые стрептококками группы А, и их осложнения являются одной из глобальных проблем современной микробиологии и международного здравоохранения. *S. pyogenes* принадлежит к патогенам, вызывающим значительную заболеваемость в разных возрастных группах населения, возникающую не только спорадически, но и вспышками, порой с осложнениями, приводящими к инвалидизации или смертельному исходу. Разнообразный арсенал факторов патогенности, которыми обладает *S. pyogenes*, проявляется сочетанными или последовательными реакциями в процессе колонизации микробом тканей, формирования очага инфекции и преодоления защитных факторов организма хозяина. В этих реакциях «зашифрованы» патогенетические механизмы многих заболеваний. Факторы патогенности СГА разделяют на ассоциированные с клеточной стенкой микроба и на экстрацеллюлярные его продукты; спектр их активности достаточно широкий. Исследования факторов патогенности СГА, их свойств, регуляторных механизмов и конкретной функции в патологии являются предметом научного поиска, ведущего к пониманию всей сложности функциональной организации возбудителя в его взаимодействии

с макроорганизмом. С развитием молекулярно-генетических технологий появилась возможность избегать ошибочных заключений в оценке факторов патогенности СГА и получать большие объемы данных, требующих серьезного анализа. Сегодня комплексный подход в изучении патогенных свойств возбудителя необходим, поскольку факторы патогенности не проявляют себя изолированно и не регулируются независимо. Во многих случаях регуляторы контролируют экспрессию более чем одного из них. Это явление нуждается в отдельном изучении с помощью инструментов современной молекулярной биологии. Роль ряда факторов патогенности следует изучать также на разных фазах естественного процесса в инфицированном организме чувствительного хозяина, поскольку в искусственных условиях не все свойства патогена смогут проявиться. Несмотря на то что СГА изучаются уже около полутора веков, до сих пор остается ряд нерешенных вопросов, связанных с их болезнетворностью. До настоящего времени не создано эффективной вакцины для профилактики стрептококковых заболеваний; она пока находится на стадии эксперимента. Объяснение этому может быть най-

дено в «многоликости» данного возбудителя. СГА-инфекции могут иметь последствия как для заболевшего (инвалидизация), так и для его ближайшего окружения, особенно в детских садах, школах, казармах военнослужащих и в ограниченных коллективах при вахтенных работах. Вспышки стрептококковых заболеваний чреваты проблемами в работе органов местного здравоохранения, особенно в случаях, когда вспышка обусловлена резистентными к антибиотикам формами СГА, которые за последние годы распространились в связи с широким и не всегда оправданным (порой бесконтрольным) применением химиопрепаратов.

За рамками настоящего обзора остались проблемы генетики патогенности, роли нехромосомных мобильных генетических элементов (бактериофагов, плазмид, IS-последовательностей) в проявлениях патогенности стрептококков группы А. Необходимо и более детальное рассмотрение роли факторов патогенности при конкретных формах заболеваний, вызываемых *S. pyogenes*. Эти вопросы, как и особенности иммунопатологических процессов, осложняющих стрептококковые инфекции, нуждаются в отдельном анализе.

Список литературы/References

1. Бурова Л.А., Гаврилова Е.А., Пигаревский П.В., Тотолян Артем А. Роль стрептокиназы в моделировании постстрептококкового гломерулонефрита // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 853–864. [Burova L.A., Gavrilova E.A., Pigarevsky P.V., Totolian A.A. A role of streptokinase in experimental post-streptococcal glomerulonephritis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 853–864. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-ARO-1594
2. Бурова Л.А., Пигаревский П.В., Снегова В.А., Дуплик Н.В., Шален К., Тотолян Артем А. Нефритогенность IgA-связывающих *Streptococcus pyogenes*. Моделирование IgA-гломерулонефрита // Медицинская иммунология. 2016. Т. 18, № 3. С. 221–230. [Burova L.A., Pigarevsky P.V., Snegova V.A., Duplik N.V., Schalen K., Totolian Artem A. Nephritogenic activity of IgA-binding *Streptococcus pyogenes*. An experimental model of IgA glomerulonephritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, vol. 18, no. 3, pp. 221–230. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-221-230
3. Старикова Э.А., Кудрявцев И.В., Бурова Л.А., Лебедева А.М., Маммедова Дж.Т., Фрейдлин И.С. Влияние стрептококковой аргининдеиминазы на формирование лейкоцитарного инфильтрата в модели воздушного кармана у мышей // Медицинская иммунология. 2020. Т. 22, № 6. С. 1121–1130. [Starikova E.A., Kudryavtsev I.V., Burova L.A., Lebedeva A.M., Mammedova J.T., Freidlin I.S. Influence of streptococcal arginine deiminase on the leukocyte infiltration in murine air pouch model. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, vol. 22, no. 6, pp. 1121–1130. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-IOS-2075
4. Старикова Э.А., Соколов А.В., Бурова Л.А., Фрейдлин И.С. Иммуносупрессорные эффекты аргининдеиминазы *Streptococcus pyogenes* // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № 4. С. 303–318. [Starikova E.A., Sokolov A.V., Burova L.A., Freidlin I.S. Immunosuppressive effects of arginine deiminase from *Streptococcus pyogenes*. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, vol. 17, no. 4, pp. 303–318. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-303-318
5. Тотолян Артем А., Бурова Л.А. Fc-рецепторные белки *Streptococcus pyogenes* и патогенез постинфекционных осложнений (критический обзор) // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2014. № 3. С. 78–91. [Totolian Artyom A., Burova L.A. Fc-receptor proteins of *Streptococcus pyogenes* and the pathogenesis of post-infectious complications (critical review). *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2014, no. 3, pp. 78–91. (In Russ.)]
6. Тотолян А.А., Бурова Л.А., Пигаревский П.В. Экспериментальный постстрептококковый гломерулонефрит. СПб.: Человек, 2019. 108 с. [Totolian A.A., Burova L.A., Pigarevsky P.V. Experimental poststreptococcal glomerulonephritis. *St. Petersburg: Chelovek*, 2019. 108 p. (In Russ.)]
7. Agniswamy J., Lei B., Musser J.M., Sun P.D. Insight of host immune evasion mediated by two variants of group A *Streptococcus* Mac protein. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, no. 50, pp. 52789–52796. doi: 10.1074/jbc.M410698200
8. Akesson P., Moritz L., Truedsson M., Christensson B., von Pawel-Rammingen U. IdeS, a highly specific immunoglobulin G (IgG)-cleaving enzyme from *Streptococcus pyogenes*, is inhibited by specific IgG antibodies generated during infection. *Infect. Immun.*, 2006, vol. 74, no. 1, pp. 497–503. doi: 10.1128/IAI.74.1.497-503.2006
9. Akesson P., Sjöholm A.G., Björck L. Protein SIC, a novel extracellular protein of *Streptococcus pyogenes* interfering with complement function. *J. Biol. Chem.*, 1996, vol. 271, no. 2, pp. 1081–1088. doi: 10.1074/jbc.271.2.1081

10. Ashbaugh C.D., Moser T.J., Shearer M.H., White G.L., Kennedy R.C., Wessels M.R. Bacterial determinants of persistent throat colonization and the associated immune response in primate model of human group A streptococcal pharyngeal infection. *Cell Microbiol.*, 2000, vol. 2, no. 4, pp. 283–292. doi: 10.1046/j.1462-5822.2000.00050.x
11. Bastiat-Sempe B., Love J.F., Lomayeva N., Wessels M.R. Streptolysin O and NAD-glycohydrolase prevent phagolysosome acidification and promote group A streptococcus survival in macrophages. *mBio*, 2014, vol. 5, no. 5: e01690–e14. doi: 10.1128/mBio.01690-14.
12. Batsford S.R., Mezzano S., Mihatsch M., Schlitz E., Rodríguez-Iturbe B. Is the nephritogenic antigen in post-streptococcal glomerulonephritis pyrogenic exotoxin B (SPE B) or GAPDH? *Kidney Int.*, 2005, vol. 68, no. 3, pp. 1120–1129. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00504.x
13. Beckmann C., Waggoner J.D., Harris T.O., Tamura G.S., Rubens C.E. Identification of novel adhesins from group B streptococci by use of phage display reveals that C5a peptidase mediates fibronectin binding. *Infect. Immun.*, 2000, vol. 70, no. 6, pp. 2869–2876. doi: 10.1128/iai.70.6.2869-2876.2002
14. Beres S.B., Sylva G.L., Barbian K.D., Lei B., Hoff J.S., Mammarella N.D., Liu M.Y., Smoot J.C., Porcella S.F., Parkins L.D., Campbell D.S., Smith T.M., McCormick J.K., Leung D.Y.M., Schlievert P.M., Musser J.M. Genome sequence of a serotype M3 strain of group A Streptococcus: phage-encoded toxins, the high-virulence phenotype, and clone emergence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 15, pp. 10078–10083. doi: 10.1073/pnas.152298499
15. Berggård K., Johnsson E., Morfeldt E., Persson J., Ståhlhammar-Carlemalm M., Lindahl G. Binding of human C4BP to the hypervariable region of M protein: a molecular mechanism of phagocytosis resistance in Streptococcus pyogenes. *Mol. Microbiol.*, 2001, vol. 42, no. 2, pp. 539–551. doi: 10.1046/j.1365-2958.2001.02664.x
16. Bisno A.L., Stevens D.L. Streptococcal infections of skin and soft tissue. *N. Engl. J. Med.*, 1996, vol. 334, no. 4, pp. 240–245. doi: 10.1056/NEJM199601253340407
17. Bohach G.A., Hauser A.R., Schlievert P.M. Cloning of the gene, speB, for streptococcal pyrogenic exotoxin type B in Escherichia coli. *Infect. Immun.*, 1988, vol. 56, no. 6, pp. 1665–1667. doi: 10.1128/IAI.56.6.1665-1667.1988
18. Boxrud P.D., Bock P.E. Coupling of conformational and proteolytic activation in the kinetic mechanism of plasminogen activation by streptokinase. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, no. 35, pp. 36642–36649. doi: 10.1074/jbc.M405265200
19. Boxrud P.D., Fay W.P., Bock P.E. Streptokinase binds to human plasmin with high affinity, perturbs the plasmin active site, and induces expression of a substrate recognition exosite for plasminogen. *J. Biol. Chem.*, 2000, vol. 275, no. 19, pp. 14579–14589. doi: 10.1074/jbc.M405265200
20. Bricker A.L., Cywes C., Ashbaugh C.D., Wessels M.R. NAD⁺-glycohydrolase acts as an intracellular toxin to enhance the extracellular survival of group A streptococci. *Mol. Microbiol.*, 2002, vol. 44, no. 1, pp. 257–269. doi: 10.1046/j.1365-2958.2002.02876.x
21. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 2004, vol. 303, no. 5663, pp. 1532–1535. doi: 10.1126/science.1092385
22. Brosnahan A.J., Schlievert P.M. Gram-positive bacterial superantigen outside-in signaling causes toxic shock syndrome. *FEBS J.*, 2011, vol. 278, no. 23, pp. 4649–4667. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08151.x
23. Buchanan J.T., Simpson A.J., Aziz R.K., Liu G.Y., Kristian S.A., Kotb M., Feramisco J., Nizet V. DNase expression allows the pathogen group A Streptococcus to escape killing in neutrophil extracellular traps. *Curr. Biol.*, 2006, vol. 16, no. 4, pp. 396–400. doi: 10.1016/j.cub.2005.12.039
24. Buova L.A., Schalen C., Koroleva I.V., Svensson M.-L. Role of group A streptococcal IgG Fc-receptor in induction of anti-IgG by immunization in rabbit. *FEMS Microb. Immunol.*, 1989, vol. 47, no. 8–9, pp. 443–448. doi: 10.1111/j.1574-6968.1989.tb02435.x
25. Carlsson F., Berggård K., Ståhlhammar-Carlemalm M., Lindahl G. Evasion of phagocytosis through cooperation between two ligand-binding regions in Streptococcus pyogenes M protein. *J. Exp. Med.*, 2003, vol. 198, no. 7, pp. 1057–1058. doi: 10.1084/jem.20030543
26. Carlsson F., Sandin C., Lindahl G. Human fibrinogen bound to Streptococcus pyogenes M protein inhibits complement deposition via the classical pathway. *Mol. Microbiol.*, 2005, vol. 56, no. 1, pp. 28–39. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04527.x
27. Cedervall T., Johansson M.U., Åkerström B. Coiled-coil structure of group A streptococcal M proteins. Different temperature stability of class A and C proteins by hydrophobic-nonglycophilic amino acid substitutions at heptad positions a and d. *Biochemistry*, 1997, vol. 36, no. 16, pp. 4987–4994. doi: 10.1021/bi962971q
28. Chang A., Khemlani A., Kang H., Proft T. Functional analysis of Streptococcus pyogenes nuclease A (SpnA), a novel group A streptococcal virulence factor. *Mol. Microbiol.*, 2011, vol. 79, no. 6, pp. 1629–1642. doi: 10.1111/j.1365-2958.2011.07550.x
29. Chaussee M.S., Phillips E.R., Ferretti J.J. Temporal production of streptococcal erythrogenic toxin B (streptococcal cysteine proteinase) in response to nutrient depletion. *Infect. Immun.*, 1997, vol. 65, no. 5, pp. 1956–1959. doi: 10.1128/IAI.65.5.1956-1959.1997
30. Cheng Q., Staflieni D., Purushothaman S.S., Cleary P.P. The group B streptococcal C5a peptidase is both a specific protease and an invasion. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, no. 5, pp. 2408–2413. doi: 10.1128/iai.70.5.2408-2413.2002
31. Christensen P., Sramec J., Zatterstrom U. Binding of aggregated IgG in the presence of fresh serum: strong association with type 12 group A streptococci. Absence of binding among nephritogenic type 49 strains. *APMIS*, 1981, vol. 89, no. 2, pp. 87–91. doi: 10.1111/j.1699-0463.1981.tb00158_89b.x
32. Cole J.N., Barnett T.C., Nizet V., Walker M.J. Molecular insight into invasive group A streptococcal disease. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2011, vol. 9, no. 10, pp. 724–736. doi: 10.1038/nrmicro2648
33. Cole J.N., McArthur J.D., McKay F.C., Sanderson-Smith M.L., Cork A.J., Ranson M., Rohde M., Itzek A., Sun H., Ginsburg D., Kotb M., Nizet V., Chhatwal G.S., Walker M.J. Trigger for group A streptococcal MIT1 invasive disease. *FASEB J.*, 2006, vol. 20, no. 10, pp. 1745–1747. doi: 10.1096/fj.06-5804ffe
34. Collin M., Olsén A. Effect of SpeB and EndoS from Streptococcus pyogenes on human immunoglobulins. *Infect. Immun.*, 2001, vol. 69, no. 11, pp. 7187–7189. doi: 10.1128/IAI.69.11.7187-7189.2001
35. Collin M., Olsén A. EndoS, a novel secreted protein from Streptococcus pyogenes with endoglycosidase activity on human IgG. *EMBO J.*, 2001, vol. 20, no. 12, pp. 3046–3055. doi: 10.1093/emboj/20.12.3046

36. Collin M., Svensson M.D., Sjöholm A.G., Jensenius J.C., Sjöbring U., Olsén A. EndoS and SpeB from *Streptococcus pyogenes* inhibit immunoglobulin-mediated opsonophago-cytosis. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, no. 12, pp. 6646–6651. doi: 10.1128/IAI.70.12.6646-6651.2002
37. Commons R.J., Smeesters P.R., Proft T., Fraser J.D., Robins-Browne R., Curtis N. Streptococcal superantigens: categorization and clinical associations. *Trends Mol. Med.*, 2014, vol. 20, no. 1, pp. 48–62. doi: 10.1016/j.molmed.2013.10.004
38. Courtney H.S., Hasty D.L., Dale J.B. Molecular mechanisms of adhesion, colonization and invasion of group A streptococci. *Ann. Med.*, 2002, vol. 34, no. 2, pp. 77–87. doi: 10.1080/07853890252953464
39. Courtney H.S., von Hunolstein C., Dale J.B., Bronze M.S., Beachey E.H., Hasty D.L. Lipoteichoic acid and M protein: dual adhesions of group A streptococci. *Microb. Pathog.*, 1992, vol. 12, no. 3, pp. 199–208. doi: 10.1016/0882-4010(92)90054-r
40. Cunningham M.W. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000, vol. 13, no. 3, pp. 470–511. doi: 10.1128/cmr.13.3.470-511.2000
41. Cywes C., Stamenkovic I., Wessels M.R. CD44 as a receptor for colonization of the pharynx by group A *Streptococcus*. *J. Clin. Invest.*, 2000, vol. 106, no. 8, pp. 995–1002. doi: 10.1172/JCI10195
42. Cywes C., Wessels M.R. Group A *Streptococcus* tissue invasion by CD44-mediated cell signaling. *Nature*, 2001, vol. 414, no. 6864, pp. 648–652. doi: 10.1038/414648a
43. Dale J.B., Chiang E.Y., Hasty D.L., Courtney H.S. Antibodies against a synthetic peptide of SagA neutralize the cytolytic activity of streptolysin S from group A streptococci. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, no. 4, pp. 2166–2170. doi: 10.1128/iai.70.4.2166-2170.2002
44. Dale J.B., Washburn R.G., Marques M.B., Wessels M.R. Hyaluronate capsule and surface M protein in resistance to opsonization of group A streptococci. *Infect. Immun.*, 1996, vol. 64, no. 5, pp. 1495–1501. doi: 10.1128/IAI.64.5.1495-1501.1996
45. Degnan B.A., Palmer J.M., Robson T., Jones C.E., Fischer M., Glanville M., Mellor G.D., Diamond A.G., Kehoe M.A., Goodacre J.A. Inhibition of human peripheral blood mononuclear cell proliferation by *Streptococcus pyogenes* cell extract is associated with arginine deiminase activity. *Infect. Immun.*, 1998, vol. 66, no. 7, pp. 3050–3058. doi: 10.1128/IAI.66.7.3050-3058.1998
46. Dick G.F., Dick G.H. Landmark article Jan 26, 1924: The etiology of scarlet fever. *JAMA*, 1983, vol. 250, no. 22: 3096. doi: 10.1001/jama.250.22.3096
47. Egesten A., Eliasson M., Johansson H.M., Olin A.I., Morgelin M., Mueller A., Pease J.E., Frick I.M., Björck L. The CXC chemokine MIG/CXCL9 is important in innate immunity against *Streptococcus pyogenes*. *J. Infect. Dis.*, 2007, vol. 195, no. 5, pp. 684–693. doi: 10.1086/510857
48. Feil S.C., Ascher D.B., Kuiper M.J., Tweten R.K., Parker M.W. Structural studies of *Streptococcus pyogenes* streptolysin O provide insights into the early steps of membrane penetration. *J. Mol. Biol.*, 2014, vol. 426, no. 4, pp. 785–792. doi: 10.1016/j.jmb.2013.11.020
49. Fernie-King B.A., Seilly D.J., Binks M.J., Sriprakash K.S., Lachmann P.J. Streptococcal DRS (distantly related to SIC) and SIC inhibit antimicrobial peptides, components of mucosal innate immunity: a comparison of their activities. *Microbes Infect.*, 2007, vol. 9, no. 3, pp. 300–307. doi: 10.1016/j.micinf.2006.12.006
50. Fernie-King B.A., Seilly D.J., Davies A., Lachmann P.J. Streptococcal inhibitor of complement inhibits two additional components of the mucosal innate immune system: secretory leukocyte proteinase inhibitor and lysozyme. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, no. 9, pp. 4908–4916. doi: 10.1128/iai.70.9.4908-4916.2002
51. Fernie-King B.A., Seilly D.J., Willers C., Würzner R., Davies A., Lachmann P.J. Streptococcal inhibitor of complement (SIC) inhibits the membrane attack complex by preventing uptake of C567 onto cell membranes. *Immunology*, 2001, vol. 103, no. 3, pp. 390–398. doi: 10.1046/j.1365-2567.2001.01249.x
52. Ferretti J.J., McScan W.M., Ajdic D., Savic G., Lyon K., Primeaux Ch., Sezate S., Suvorov A.N., Kenton S., Lai H.S., Lin S.P., Qian Y., Jia H.G., Najjar F.Z., Ren Q., Zhu H., Song L., White J., Yuan X., Clifton S.W., Roe B.A., McLaughlin R. Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, vol. 98, no. 8, pp. 4658–4663. doi: 10.1073/pnas.071559398
53. Fischetti V.A. M protein and other surface proteins on Streptococci. In: *Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations*. Oklahoma City: University of Oklahoma Health Sciences Center, 2016. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333424>
54. Fischetti V.A. Streptococcal M protein: molecular design and biological behavior. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1989, vol. 2, no. 3, pp. 285–314. doi: 10.1128/cmr.2.3.285
55. Fischetti V.A., Pancholi V., Schneewind O. Conservation of a hexapeptide sequence in the anchor region of the surface proteins of gram-positive cocci. *Mol. Microbiol.*, 1990, vol. 4, no. 9, pp. 1603–1605. doi: 10.1111/j.1365-2958.1990.tb02072.x
56. Flores A.R., Jewell B.E., Fittipaldi N., Beres S.B., Musser J.M. Human disease isolates of serotype m4 and m22 group A streptococcus lack genes required for hyaluronic acid capsule biosynthesis. *mBio*, 2012, vol. 3, no. 6: e00413–12. doi: 10.1128/mBio.00413-12
57. Flores A.R., Jewell B.E., Olsen R.J., Shelburne S.A., Fittipaldi N., Beres S.B., Musser J.M. Asymptomatic carriage of group A streptococcus is associated with elimination of capsule production. *Infect. Immun.*, 2014, vol. 82, no. 9, pp. 3958–3967. doi: 10.1128/IAI.01788-14
58. Foley M.J., Wood W.B. Jr. Studies on the pathogenicity of group A streptococci II. The antiphagocytic effects of the M protein and the capsular gel. *J. Exp. Med.*, 1959, vol. 110, no. 4, pp. 617–628. doi: 10.1084/jem.110.4.617
59. Forsgren A., Sjoquist J. “Protein A” from *S. aureus*. I. Pseudoimmune reaction with human gamma-globulin. *J. Immunol.*, 1966, vol. 97, no. 6, pp. 822–827.
60. Frick I.M., Akesson P., Cooney J., Sjöbring U., Schmidt K.H., Gomi H., Hattori S., Tagawa C., Kashimoto F., Björck L. Protein H — a surface protein of *Streptococcus pyogenes* with separate binding sites for IgG and albumin. *Mol. Microbiol.*, 1994, vol. 12, no. 1, pp. 143–151. doi: 10.1111/j.1365-2958.1994.tb01003.x
61. Frick I.M., Shannon O., Åkesson P., Mörgelin M., Collin M., Schmidtchen A., Björck L. Antibacterial activity of the contact and complement systems is blocked by SIC, a protein secreted by *Streptococcus pyogenes*. *J. Biol. Chem.*, 2011, vol. 286, no. 2, pp. 1331–1340. doi: 10.1074/jbc.M110.178350

62. Gase K., Ferretti J.J., Primeaux C., McShan W.M. Identification, cloning, and expression of the CAMP factor gene (cfa) of group A streptococci. *Infect. Immun.*, 1999, vol. 67, no. 9, pp. 4725–4731. doi: 10.1128/IAI.67.9.4725-4731.1999
63. Gerlach D., Reichardt W., Fleischer B., Schmidt K.H. Separation of mitogenic and pyrogenic activities from so-called erythrogenic toxin type B (Streptococcal proteinase). *Zentralbl. Bakteriol.*, 1994, vol. 280, no. 4, pp. 507–514. doi: 10.1016/s0934-8840(11)80510-4
64. Ghosh J., Anderson P.J., Chandrasekaran S., Caparon M.G. Characterization of *Streptococcus pyogenes* beta-NAD + glycohydrolase: re-evaluation of enzymatic properties associated with pathogenesis. *J. Biol. Chem.*, 2010, vol. 285, no. 8, pp. 5683–5694. doi: 10.1074/jbc.M109.070300
65. Ghosh J., Caparon M.G. Specificity of *Streptococcus pyogenes* NAD(+) glycohydrolase in cytolysin-mediated translocation. *Mol. Microbiol.*, 2006, vol. 62, no. 4, pp. 1203–1214. doi: 10.1111/j.1365-2958.2006.05430.x
66. Ginsburg I. Is streptolysin S of group A streptococci a virulence factor? *APMIS*, 1999, vol. 107, no. 12, pp. 1051–1059. doi: 10.1111/j.1699-0463.1999.tb01509.x
67. Grifantini R., Toukoki C., Colaprico A., Gryllos I. Peroxide stimulon and role of PerR in group A *Streptococcus*. *J. Bacteriol.*, 2011, vol. 93, no. 23, pp. 6539–6551. doi: 10.1128/JB.05924-11
68. Haanes E.J., Heath D.G., Cleary P.P. Architecture of the vir regulons of group A streptococci parallels opacity factor phenotype and M protein class. *J. Bacteriol.*, 1992, vol. 174, no. 15, pp. 4967–4976. doi: 10.1128/jb.174.15.4967-4976.1992
69. Hanski E., Caparon M. Protein F, a fibronectin-binding protein, is an adhesin of group A streptococcus *Streptococcus pyogenes*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, vol. 89, no. 13, pp. 6172–6176. doi: 10.1073/pnas.89.13.6172
70. Harder J., Franchi L., Muñoz-Planillo R., Park J.H., Reimer T., Núñez G. Activation of the Nlrp3 inflammasome by *Streptococcus pyogenes* requires streptolysin O and NF-kappa B activation but proceeds independently of TLR signaling and P2X7 receptor. *J. Immunol.*, 2009, vol. 183, no. 9, pp. 5823–5829. doi: 10.4049/jimmunol.0900444
71. Heath D.G., Cleary P.P. Fc-receptor and M-protein genes of group A streptococci are products of gene duplication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, vol. 86, no. 12, pp. 4741–4745. doi: 10.1073/pnas.86.12.4741
72. Herwald H., Collin M., Muller-Esterl W., Bjorck L. Streptococcal cysteine proteinase releases kinins: virulence mechanism. *J. Exp. Med.*, 1996, vol. 184, no. 2, pp. 665–673. doi: 10.1084/jem.184.2.665
73. Hoe N.P., Ireland R.M., DeLeo F.R., Gowen B.B., Dorward D.W., Voyich J.M., Liu M., Burns E.H. Jr, Culnan D.M., Bretscher A., Musser J.M. Insight into the molecular basis of pathogen abundance: group A *Streptococcus* inhibitor of complement inhibits bacterial adherence and internalization into human cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 11, pp. 7646–7651. doi: 10.1073/pnas.112039899
74. Hollands A., Pence M.A., Timmer A.M., Osvath S.R., Turnbull L., Whitchurch C.B., Walker M.J., Nizet V. Genetic switch to hypervirulence reduces colonization phenotypes of the globally disseminated group A streptococcus MIT1 clone. *J. Infect. Dis.*, 2010, vol. 202, no. 1, pp. 11–19. doi: 10.1086/653124
75. Hollingshead S.K., Arnold J., Readdy T.L., Bessen D.E. Molecular evolution of a multigene family in group A streptococci. *Mol. Biol. Evol.*, 1994, vol. 11, no. 2, pp. 208–219. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040103
76. Hollingshead S.K., Readdy T.L., Yung D.L., Bessen D.E. Structural heterogeneity of the emm gene cluster in group A streptococci. *Mol. Microbiol.*, 1993, vol. 8, no. 4, pp. 707–717. doi: 10.1111/j.1365-2958.1993.tb01614.x
77. Huang T.T., Malke H., Ferretti J.J. Heterogeneity of the streptokinase gene in group A streptococci. *Infect. Immun.*, 1989, vol. 57, no. 2, pp. 502–506. doi: 10.1128/IAI.57.2.502-506.1989
78. Hynes W., Johnson C., Stokes M. A single nucleotide mutation results in loss of enzymatic activity in the hyaluronate lyase gene of *Streptococcus pyogenes*. *J. Microb. Pathog.*, 2009, vol. 47, no. 6, pp. 308–313. doi: 10.1016/j.micpath.2009.09.008
79. Hynes W., Sloan M. Secreted extracellular virulence factors. In: *Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations. Oklahoma City: University of Oklahoma Health Sciences Center*, 2016. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333424/>
80. Jacks-Weis J., Kim Y., Cleary P.P. Restricted deposition of C3 on M+ group A streptococci: correlation with resistance to phagocytosis. *J. Immunol.*, 1982, vol. 128, no. 4, pp. 1897–1902.
81. Jantsch J., Gerlach R.G., Ensser A., Dahesh S., Popp I., Heeg C., Bleiziffer O., Merz T., Schulz T., Horch R.E., Bogdan C., Nizet V., van der Linden M. Severe soft tissue infection caused by a non-beta-hemolytic *Streptococcus pyogenes* strain harboring a premature stop mutation in the sagC gene. *J. Clin. Microbiol.*, 2013, vol. 51, no. 6, pp. 1962–1965. doi: 10.1128/JCM.00175-13
82. Jin H., Song Y.P., Boel G., Kochar J., Pancholi V. Group A streptococcal surface GAPDH, SDH, recognizes uPAR/CD87 as its receptor on the human pharyngeal cell and mediates bacterial adherence to host cells. *Mol. Biol.*, 2005, vol. 350, no. 1, pp. 27–41. doi: 10.1016/j.jmb.2005.04.063
83. Kalia A., Bessen D.E. Natural selection and evolution of streptococcal virulence genes involved in tissue-specific adaptations. *J. Bacteriol.*, 2004, vol. 186, no. 1, pp. 110–121. doi: 10.1128/JB.186.1.110-121.2004
84. Kamezawa Y., Nakahara T., Nakano S., Abe Y., Nozaki-Renard J., Isono T. Streptococcal mitogenic exotoxin Z, a novel acidic superantigenic toxin produced by a T1 strain of *Streptococcus pyogenes*. *Infect. Immun.*, 1997, vol. 65, no. 9, pp. 3828–3833. doi: 10.1128/IAI.65.9.3828-3833.1997
85. Kanaoka M.C., Kawanaka T., Negoro Y., Fukita K.T., Agui H. Cloning and expression of the antitumor glycoprotein gene of *Streptococcus pyogenes* Su in *Escherichia coli*. *Agric. Biol. Chem.*, 1987, vol. 51, pp. 2641–2648.
86. Kass E.H., Seastone C.V. The role of the mucoid polysaccharide (hyaluronic acid) in the virulence of group A hemolytic streptococci. *J. Exp. Med.*, 1944, vol. 79, no. 3, pp. 319–330. doi: 10.1084/jem.79.3.319
87. Kawabata S., Tamura Y., Murakami J., Terao Y., Nakagawa I., Hamada S. A novel, anchorless streptococcal surface protein that binds to human immunoglobulins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, vol. 296, no. 5, pp. 1329–1333. doi: 10.1016/s0006-291x(02)02078-8
88. Khil J., Im M., Heath A., Ringdahl U., Mundada L., Engleberg N.C., Fay W.P. Plasminogen enhances virulence of group A streptococci by streptokinase-dependent and streptokinase-independent mechanisms. *J. Infect. Dis.*, 2003, vol. 188, no. 4, pp. 497–505. doi: 10.1086/377100

89. Kim Y.B., Watson D.W. Apurified group A streptococcal pyrogenic exotoxin. Physicochemical and biological properties, including the enhancement of susceptibility to endotoxin lethal shock. *J. Exp. Med.*, 1970, vol. 131, no. 3, pp. 611–622. doi: 10.1084/jem.131.3.611
90. Krause R.M. A cartographer's survey of streptococcal topography. In: Streptococcal diseases and the immune response. Ed. by S.E. Read, J.B. Zabriskie. New-York, London: Academic Press, 1980, pp. 97–110.
91. Kronvall G. A surface component in group A, C, and G streptococci with non-immune reactivity for immunoglobulin G. *J. Immunol.*, 1973, vol. 111, no. 5, pp. 1401–1406.
92. Kwinn L.A., Nizet V. How group A Streptococcus circumvents host phagocyte defenses. *Future Microbiol.*, 2007, vol. 2, no. 1, pp. 75–84. doi: 10.2217/17460913.2.1.75
93. Lancefield R.C. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J. Exp. Med.*, 1933, vol. 57, no. 4, pp. 571–595. doi: 10.1084/jem.57.4.571
94. Lancefield R.C. Current knowledge of type-specific M antigens of group A streptococci. *J. Immunol.*, 1962, vol. 89, pp. 307–313.
95. Lawrenson R.A., Sriskandan S. Cell Envelope Proteinase A (Streptococcus). In: Handbook of Proteolytic Enzymes. Ed. by N.D. Rawlings, G. Salvesen. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier, 2013, pp. 3195–3202.
96. Lindahl G. An Odyssey in word of M proteins. In: Perspectives on receptins and resistance. Ed. by G. Kronvall. Stockholm, 2013, pp. 13–23.
97. Liu M., Zhu H., Li J., Garcia C.C., Feng W., Kirpotina L.N., Hilmer J., Tavares L.P., Layton A.W., Quinn M.T., Bothner B., Teixeira M.M., Leiet B. Group A Streptococcus secreted esterase hydrolyzes platelet-activating factor to impede neutrophil recruitment and facilitate innate immune evasion. *PLoS Pathog.*, 2012, vol. 8, no. 4: e1002624. doi: 10.1371/journal.ppat.100262
98. Lukomski S., Nakashima K., Abdi I., Cipriano V.J., Ireland R.M., Reid S.D., Adams G.G., Musser J.M. Identification and characterization of the scl gene encoding a group A Streptococcus extracellular protein virulence factor with similarity to human collagen. *Infect. Immun.*, 2000, vol. 68, no. 12, pp. 6542–6553. doi: 10.1128/iai.68.12.6542-6553.2000
99. Lukomski S., Nakashima K., Abdi I., Cipriano V.J., Shelvin B.J., Graviss E.A., Musser J.M. Identification and characterization of a second extracellular collagen-like protein made by group A Streptococcus: control of production at the level of translation. *Infect. Immun.*, 2001, vol. 69, no. 3, pp. 1729–1738. doi: 10.1128/IAI.69.3.1729-1738.2001
100. Madden J.C., Ruiz N., Caparon M. Cytolysin-mediated translocation (CMT): a functional equivalent of type III secretion in gram-positive bacteria. *Cell*, 2001, vol. 104, no. 1, pp. 143–152. doi: 10.1016/S0092-8674(01)00198-2
101. Malke H., Ferretti J.J. Streptokinase: cloning, expression, and excretion by Escherichia coli. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, vol. 81, no. 11, pp. 3557–3561. doi: 10.1073/pnas.81.11.3557
102. McArthur J.D., McKay F.C., Ramachandran V., Shyam P., Cork A.J., Sanderson-Smith M.L., Cole J.N., Ringdahl U., Sjöbring U., Ranson M., Walker M.J. Allelic variants of streptokinase from Streptococcus pyogenes display functional differences in plasminogen activation. *FASEB J.*, 2008, vol. 22, no. 9, pp. 3146–3153. doi: 10.1096/fj.08-109348.
103. McMillan D.J., Davies M.R., Good M.F., Sriprakash K.S. Immune response to superoxide dismutase in group A streptococcal infection. *FEMS Immunol. Med. Microb.*, 2004, vol. 40, no. 3, pp. 249–256. doi: 10.1016/S0928-8244(04)00003-3
104. Michos A., Gryllos I., Håkansson A., Srivastava A., Kokkotou E., Wessels M.R. Enhancement of streptolysin O activity and intrinsic cytotoxic effects of the group A streptococcal toxin, NAD-glycohydrolase. *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281, no. 12, pp. 8216–8223. doi: 10.1074/jbc.M511674200
105. Mills J.O., Ghosh P. Nonimmune antibody interactions of group A Streptococcus M and M-like proteins. *PLoS Pathog.*, 2021, vol. 17, no. 2: e1009248. doi: 10.1371/journal.ppat.1009248 E
106. Minami M., Ohmori D., Tatsuno I., Isaka M., Kawamura Y., Ohta M., Hasegawa T. The streptococcal inhibitor of complement (SIC) protects Streptococcus pyogenes from bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS) from Streptococcus salivarius. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2009, vol. 298, no. 1, pp. 67–73. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01696.x
107. Mollick J.A., Miller G.G., Musser J.M., Cook R.G., Grossman D., Rich R.R. A novel superantigen isolated from pathogenic strains of Streptococcus pyogenes with aminoterminal homology to staphylococcal enterotoxins B and C. *J. Clin. Invest.*, 1993, vol. 92, no. 2, pp. 710–719. doi: 10.1172/JCI116641
108. Molloy E.M., Cotter P.D., Hill C., Mitchell D.A., Ross R.P. Streptolysin S-like virulence factors: the continuing saga. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2011, vol. 9, no. 9, pp. 670–681. doi: 10.1038/nrmicro2624
109. Myhre E.B., Kronvall G. Heterogeneity of nonimmune immunoglobulin Fc reactivity among gram-positive cocci. Description of three major types of receptors for human immunoglobulin G. *Infect. Immun.*, 1977, vol. 17, no. 3, pp. 475–482. doi: 10.1128/IAI.17.3.475-482.1977
110. Nasser W., Beres S.B., Olsen R.J., Dean M.A., Rice K.A., Long S.W., Kristinsson K.G., Gottfredsson M., Vuopio J., Raisanen K., Caugant D.A., Steinbakk M., Low D.E., McGeer A., Darenberg J., Henriques-Normark B., Van Beneden C.A., Hoffmann S., Musser J.M. Evolutionary pathway to increased virulence and epidemic group A Streptococcus disease derived from 3,615 genome sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, vol. 111, no. 17, pp. E1768–E1776. doi: 10.1073/pnas.1403138111
111. Nelson D.C., Garbe G., Collin M. Cysteine proteinase SpeB from Streptococcus pyogenes — a potent modifier of immunologically important host and bacterial proteins. *Biol. Chem.*, 2011, vol. 392, no. 12, pp. 1077–1088. doi: 10.1515/BC.2011.208
112. Nilsson M., Sørensen O.E., Mörgelin M., Weisen M., Sjöbring U., Herwald H. Activation of human polymorphonuclear neutrophils by streptolysin O from Streptococcus pyogenes leads to the release of proinflammatory mediators. *Thromb Haemost.*, 2006, vol. 95, no. 6, pp. 982–990. doi: 10.1160/TH05-08-0572
113. Nobbs A.H., Lamont R.J., Jenkinson H.F. Streptococcus adherence and colonization. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2009, vol. 73, no. 3, pp. 407–450. doi: 10.1128/MMBR.00014-09
114. Noh E.J., Kang S.W., Shin Y.J., Kim D.C., Park I.S., Kim M.Y., Chun B.G., Min B.H. Characterization of mycoplasma arginine deiminase expressed in E. coli and its inhibitory regulation of nitric oxide synthesis. *Mol. Cells*, 2002, vol. 13, no. 1, pp. 137–143.
115. Nordstrand A., Norgren M., Ferretti J.J., Holm S.E. Streptokinase as a mediator of acute post-streptococcal glomerulonephritis in an experimental mouse model. *Infect. Immun.*, 1998, vol. 66, no. 1, pp. 315–321. doi: 10.1128/IAI.66.1.315-321.1998.

116. Norrby-Teglund A., Nepom G.T., Kotb M. Differential presentation of group A streptococcal superantigens by HLA class II DQ and DR alleles. *Eur. J. Immunol.*, 2002, vol. 32, no. 9, pp. 2570–2577. doi: 10.1002/15214141(200209)32:9<2570::AID-IMMU2570>3.0.CO;2-E
117. Norrby-Teglund A., Newton D., Kotb M., Holm S.E., Norgren M. Superantigenic properties of the group A streptococcal exotoxin SpeF (MF). *Infect. Immun.*, 1994, vol. 62, no. 12, pp. 5227–5233. doi: 10.1128/IAI.62.12.5227-5233.1994
118. O'Connor S.P., Cleary P.P. Localization of the streptococcal C5a peptidase to the surface of group A streptococci. *Infect. Immun.*, 1986, vol. 53, no. 2, pp. 432–434. doi: 10.1128/IAI.53.2.432-434.1986
119. Ohkuni H., Todome Y., Yoshimura K., Yamamoto T., Suzuki H., Yokomuro K., Johnston K.N., Zabriskie J.B. Detection of nephritis strain-associated streptokinase by monoclonal antibodies. *J. Med. Microbiol.*, 1991, vol. 35, no. 1, pp. 60–63. doi: 10.1099/00222615-35-1-60
120. Okada K., Katano T., Kamogashira T., Zahn R.J., Morimito Y., Kagami S., Yasutomo K., Kuhara T., Kuroda Y. Streptokinase gene variable region classification in Streptococci: lack of correlation with post-streptococcal glomerulonephritis. *Clin. Nephrol.*, 1995, vol. 44, no. 1, pp. 8–13.
121. Okamoto S., Tamura Y., Terao Y., Hamada S., Kawabata S. Systemic immunization with streptococcal immunoglobulin-binding protein Sib 35 induces protective immunity against group A Streptococcus challenge in mice. *Vaccine*, 2005, vol. 23, no. 40, pp. 4852–4859. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.02.035
122. Okamoto S., Terao Y., Hasuike K., Hamada S., Kawabata S. A novel streptococcal leucine zipper protein (Lzp) binds to human immunoglobulins. *Bioch. Bioph. Res. Commun.*, 2008, vol. 377, no. 4, pp. 1128–1134. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.10.126
123. Okamoto S., Terao Y., Tamura Y., Hamada S., Kawabata S. Streptococcal immunoglobulin-binding protein Sib35 exerts stimulatory and mitogenic effects toward mouse B lymphocytes. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2008, vol. 281, no. 1, pp. 73–80. doi: 10.1111/j.1574-6968.2008.01078.x
124. O'Seaghdha M., Wessels M.R. Streptolysin O and its co-toxin NAD-glycohydrolase protect group A Streptococcus from Xenophagic killing. *PLoS Pathog.*, 2013, vol. 9, no. 6: e1003394. doi: 10.1371/journal.ppat.100339
125. Paillot R., Darby A.C., Robinson C., Wright N.L., Steward K.F., Anderson E., Webb K., Holden M.T.G., Efstratiou A., Broughton K., Jolley K.A., Priestnall S.L., Marotti Campi M.C., Hughes M.A., Radford A., Kerstin Erles K., Waller A.S. Identification of three novel superantigen-encoding genes in Streptococcus equi subsp. zooepidemicus, szeF, szeN, and szeP. *Infect. Immun.*, 2010, vol. 78, no. 11, pp. 4817–4827. doi: 10.1128/IAI.00751-10
126. Persson H., Vindebro R., von Pawel-Rammingen U. The streptococcal cysteine protease SpeB is not a natural immunoglobulin-cleaving enzyme. *Infect. Immun.*, 2013, vol. 81, no. 6, pp. 2236–2241. doi: 10.1128/IAI.00168-13
127. Phillips G.N. Jr, Flicker P.F., Cohen C., Manjula B.N., Fischetti V.A. Streptococcal M protein: alpha-helical coiled structure and arrangement on the cell surface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, vol. 78, no. 8, pp. 4689–4693. doi: 10.1073/pnas.78.8.4689
128. Podbielski A., Flosdorff A., Weber-Heinemann J. The group A streptococcal virR49 gene controls expression of four structural vir regulon genes. *Infect. Immun.*, 1995, vol. 63, no. 1, pp. 9–20. doi: 10.1128/IAI.63.1.9-20.1995
129. Proft T., Fraser J. Streptococcal superantigens: biological properties and potential role in disease. In: Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations. Oklahoma City: University of Oklahoma Health Sciences Center, 2016. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333424/>
130. Rasmussen M., Muller H.P., Bjorck L. Protein GRAB of Streptococcus pyogenes regulates proteolysis at the bacterial surface by binding α 2-macroglobulin. *J. Biol. Chem.*, 1999, vol. 274, no. 22, pp. 15336–15344. doi: 10.1074/jbc.274.22.15336
131. Reglinski M., Srisandakan S. The contribution of group A streptococcal virulence determinants to the pathogenesis of sepsis. *Virulence*, 2014, vol. 5, no. 1, pp. 127–136. doi: 10.4161/viru.26400
132. Riddle D.J., Bessen D.E., Caparon M.G. Variation in Streptococcus pyogenes NAD⁺ glycohydrolase is associated with tissue tropism. *J. Bacteriol.*, 2010, vol. 192, no. 14, pp. 3735–3746. doi: 10.1128/JB.00234-10
133. Ryan P.A., Juncosa B. Group A streptococcal adherence. In: Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations. Oklahoma City: University of Oklahoma Health Sciences Center, 2016. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333424>
134. Schalen C., Kurl D.N., Christensen P. Independent binding of native and aggregated IgG in group A streptococci. *AMIS*, 1986, vol. 94, no. 5, pp. 333–338. doi: 10.1111/j.1699-0463.1986.tb03062.x
135. Schmitt R., Stahl A.L., Olin A.I., Kristofferson A.C., Robertz J., Novak J., Lindahl G., Karpman D. The combined role of galactose-deficient IgA1 and streptococcal IgA-binding M proteins in inducing IL-6 and C3 secretion from human mesangial cells: implications for IgA nephropathy. *J. Immunol.*, 2014, vol. 193, no. 1, pp. 317–326. doi: 10.4049/jimmunol.1302249
136. Schragger H.M., Albertí S., Cywes C., Dougherty G.J., Wessels M.R. Hyaluronic acid capsule modulates M protein-mediated adherence and acts as a ligand for attachment of group A Streptococcus to CD44 on human keratinocytes. *J. Clin. Invest.*, 1998, vol. 101, no. 8, pp. 1708–1716. doi: 10.1172/JCI2121.
137. Shea P.R., Beres S.B., Flores A.R., Ewbank A.L., Gonzalez-Lugo J.H., Martagon-Rosado A.J., Martinez-Gutierrez J.C., Rehman N.A., Serrano-Gonzalez M., Fittipaldi N., Ayers S.D., Webb P., Willey B.M., Low D.E., Musser J.M. Distinct signatures of diversifying selection revealed by genome analysis of respiratory tract and invasive bacterial populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, vol. 108, no. 12, pp. 5039–5044. doi: 10.1073/pnas.1016282108
138. Sheeler R.D., Houston M.S., Radke S., Dale J.C., Adamson S.C. Accuracy of rapid strep testing in patients who have had recent streptococcal pharyngitis. *J. Am. Board. Fam. Pract.*, 2002, vol. 15, no. 4, pp. 261–265.
139. Shelburne S.A., Granville C., Tokuyama M., Sitkiewicz I., Patel P., Musser J.M. Growth characteristics of and virulence factor production by group A Streptococcus during cultivation in human saliva. *Infect. Immun.*, 2005, vol. 73, no. 8, pp. 4723–4731. doi: 10.1128/IAI.73.8.4723-4731.2005
140. Sierig G., Cywes C., Wessels M.R., Ashbaugh C.D. Cytotoxic effects of streptolysin O and streptolysin S enhance the virulence of poorly encapsulated group A streptococci. *Infect. Immun.*, 2003, vol. 71, no. 1, pp. 446–455. doi: 10.1128/iai.71.1.446-455.2003
141. Smoot L.M., McCormick J.K., Smoot J.C., Hoe N.P., Strickland I., Cole R.L., Barbian K.D., Earhart C.A., Ohlendorf D.H., Veasy L.G., Hill H.R., Leung D., Schlievert P.M., Musser J.M. Characterization of two novel pyrogenic toxin superantigens made

- by an acute rheumatic fever clone of *Streptococcus pyogenes* associated with multiple disease outbreaks. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, no. 12, pp. 7095–7104. doi: 10.1128/iai.70.12.7095-7104.2002
142. Sriskandan S., Unnikrishnan M., Krausz T., Cohen J. Mitogenic factor (MF) is the major DNase of serotype M89 *Streptococcus pyogenes*. *Microbiology*, 2000, vol. 146, no. 11, pp. 2785–2792. doi: 10.1099/00221287-146-11-2785
 143. Stalhammar-Carlemalm M., Areschoug T., Larsson C., Lindhal G. The R28 protein of *Streptococcus pyogenes* is related to several group B streptococcal surface proteins, confers protective immunity and promotes binding to human epithelial cells. *Mol. Microbiol.*, 1999, vol. 33, no. 1, pp. 208–219. doi: 10.1046/j.1365-2958.1999.01470.x
 144. Stevens D.L. Group A beta-hemolytic streptococci: virulence factors, pathogenesis and spectrum of clinical infections. In: *Streptococcal Infections*. Ed. by D.L. Stevens, E.L. Kaplan. Oxford, England: Oxford University Press, 2000, pp. 19–36.
 145. Stevens D.L., Bryant A.L. Streptolysin O modulates cytokine synthesis in human peripheral blood mononuclear cells. In: *Streptococci and the Host*. Ed. by T. Horaud, A. Bouvet, R. Leclercq, H. De Montclos, M. Sicard. New York: Plenum Press, 1997, pp. 925–927.
 146. Stollerman G.H., Rytel M., Ortiz J. Accessory plasma factors involved in the bactericidal test for type-specific antibody to group A streptococci. II. Human plasma cofactors enhancing opsonization of encapsulated organisms. *J. Exp. Med.*, 1963, vol. 117, no. 1, pp. 1–17. doi: 10.1084/jem.117.1.1
 147. Su Y.F., Chuang W.J., Wang S.M., Chen W.Y., Chiang Ni C., Lin Y.S., Wu J.-J., Liu Ch. The deficient cleavage of M protein-bound IgG by IdeS: insight into the escape of *Streptococcus pyogenes* from antibody-mediated immunity. *Mol. Immunol.*, 2011, vol. 49, no. 1–2, pp. 134–142. doi: 10.1016/j.molimm.2011.08.002
 148. Sumbly P., Zhang S., Whitney A.R., Falugi F., Grandi G., Graviss E.A., Deleo F.R., Musser J.M. A chemokine-degrading extracellular protease made by group A *Streptococcus* alters pathogenesis by enhancing evasion of the innate immune response. *Infect. Immun.*, 2008, vol. 76, no. 3, pp. 978–985. doi: 10.1128/IAI.01354-07
 149. Sun H., Ringdahl U., Homeister J.W., Fay W.P., Engleberg N.C., Yang A.Y., Rozek L.S., Wang X., Sjöbring U., Ginsburg D. Plasminogen is a critical host pathogenicity factor for group A streptococcal infection. *Science*, 2004, vol. 305, no. 5688, pp. 1283–1286. doi: 10.1126/science.1101245
 150. Sun H., Xu Y., Sitkiewicz I., Ma Y., Wang X., Yestrepky B.D., Huang Y., Lapadatescu M.C., Larsen M.J., Larsen S.D., James M., Musser J.M., Ginsburg D. Inhibitor of streptokinase gene expression improves survival after group A streptococcus infection in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, no. 9, pp. 3469–3474. doi: 10.1073/pnas.1201031109
 151. Svensson M.D., Scaramuzzino D.A., Sjöbring U., Olsén A., Frank C., Bessen D.E. Role for a secreted cysteine proteinase in the establishment of host tissue tropism by group A streptococci. *Mol. Microbiol.*, 2000, vol. 38, no. 2, pp. 242–253. doi: 10.1046/j.1365-2958.2000.02144.x
 152. Tamayo E., Montes M., García-Medina G., García-Arenzana J.M., Pérez-Trallero E. Spread of a highly mucoid *Streptococcus pyogenes* emm3/ST15 clone. *BMC Infect. Dis.*, 2010, 10: 233. doi: 10.1186/1471-2334-10-233
 153. Terao Y., Kamabata S., Kunitoma E., Murakami J., Nakagawa I., Hamada S. Fba, a novel fibronectin-binding protein from *Streptococcus pyogenes*, promotes bacterial entry into epithelial cells and fba gene is positively transcribed under the Mga regulator. *Mol. Microbiol.*, 2001, vol. 42, no. 1, pp. 75–86. doi: 10.1046/j.1365-2958.2001.02579.x
 154. Thern A., Wastfelt M., Lindahl G. Expression of two different antiphagocytic M-proteins by *Streptococcus pyogenes* of the OF+ lineage. *J. Immunol.*, 1998, vol. 160, no. 2, pp. 860–869.
 155. Todd E.W., Lancefield R.C. Variants of hemolytic streptococci; their relation to type specific substance, virulence, and toxin. *J. Exp. Med.*, 1928, vol. 48, no. 6, pp. 51–76. doi: 10.1084/jem.48.6.751
 156. Trastoy B., Lomino J.V., Pierce B.G., Carter L.G., Günther S., Giddens J.P., Snyder G.A., Weiss T.M., Weng Z., Wang L.-X., Sundberget E.J. Crystal structure of *Streptococcus pyogenes* EndoS, an immunomodulatory endoglycosidase specific for human IgG antibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, vol. 111, no. 18, pp. 6714–6719. doi: 10.1073/pnas.1322908111
 157. Turner C.E., Kurupati P., Jones M.D., Edwards R.J., Sriskandan S. Emerging role of the interleukin-8 cleaving enzyme SpyCEP in clinical *Streptococcus pyogenes* infection. *J. Infect. Dis.*, 2009, vol. 200, no. 4, pp. 555–563. doi: 10.1086/603541
 158. Veasy L.G., Tani L.Y., Daly J.A., Korgenski K., Miner L., Bale J., Kaplan E.L., Musser J.M., Hillet H.R. Temporal association of the appearance of mucoid strains of *Streptococcus pyogenes* with a continuing high incidence of rheumatic fever in Utah. *Pediatrics*, 2004, vol. 113, no. 1, pp. e168–e172. doi: 10.1542/peds.113.3.e168
 159. Von Pawel-Rammingen U., Johansson B.P., Björck L. IdeS, a novel streptococcal cysteine proteinase with unique specificity for immunoglobulin G. *EMBO J.*, 2002, vol. 21, no. 7, pp. 1607–1615. doi: 10.1093/emboj/21.7.1607
 160. Walker M.J., Barnett T.C., McArthur J.D., Cole J.N., Gillen C.M., Henningham A., Sriprakash K.S., Sanderson-Smith M.L., Nizet V. Disease manifestations and pathogenic mechanisms of group A streptococcus. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2014, vol. 27, no. 2, pp. 264–301. doi: 10.1128/CMR.00101-13
 161. Walker M.J., McArthur J.D., McKay F., Ranson M. Is plasminogen deployed as a *Streptococcus pyogenes* virulence factor? *Trends Microbiol.*, 2005, vol. 13, no. 7, pp. 308–313. doi: 10.1016/j.tim.2005.05.006
 162. Wang X., Lin X., Loy J.A., Tang J., Zhang X.C. Crystal structure of the catalytic domain of human plasmin complexed with streptokinase. *Science*, 1998, vol. 281, no. 5383, pp. 1662–1665. doi: 10.1126/science.281.5383.1662
 163. Ward I.B. Teichoic and teichuronic acids: biosynthesis, assembly and location. *Microb. Rev.*, 1981, vol. 45, no. 2, pp. 211–243.
 164. Watson D.W. Host-parasite factors in group A streptococcal infections. Pyrogenic and other effects of immunologic distinct exotoxins related to scarlet fever toxins. *J. Exp. Med.*, 1960, vol. 111, no. 2, pp. 255–284. doi: 10.1084/jem.111.2.255
 165. Wessels M.R. Capsular polysaccharide of group A *Streptococcus*. In: *Gram-Positive Pathogens*. Ed. by Fischetti V.A. Washington USA: American Society for Microbiology, 2000, pp. 34–42.
 166. Wessels M.R. Cell wall and surface molecules: capsule. In: *Streptococcus pyogenes: basic biology to clinical manifestations*. Oklahoma City: University of Oklahoma Health Sciences Center, 2016. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333424>
 167. Wessels M.R., Moses A.E., Goldberg J.B., DiCesare T.J. Hyaluronoc acid capsule is a virulence factor for mucoid group A streptococci. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, vol. 88, no. 19, pp. 8317–8321. doi: 10.1073/pnas.88.19.8317

168. Wexler D.E., Chenoweth D.E., Cleary P.P. Mechanism of action of the group A streptococcal C5a inactivator. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985, vol. 82, no. 23, pp. 8144–8148. doi: 10.1073/pnas.82.23.8144
169. Whatmore A.M., Kehoe M.A. Horizontal gene transfer in the evolution of group A streptococcal emm-like genes: gene mosaics and variation in vir regulons. *Mol. Microbiol.*, 1994, vol. 11, no. 2, pp. 363–374. doi: 10.1111/j.1365-2958.1994.tb00316.x
170. Whitnack E., Beachey E.H. Antiopsonic activity of fibrinogen bound to M protein on the surface of group A streptococci. *J. Clin. Invest.*, 1982, vol. 69, no. 4, pp. 1042–1045. doi: 10.1172/jci110508
171. Wicken A.J., Knox K.W. Lipoteichoic acids a new class of bacterial antigen. *Science*, 1975, vol. 187, no. 4182, pp. 1161–1167. doi: 10.1126/science.46620
172. Wirawan E., Vanden Berghe T., Lippens S., Agostinis P., Vandenabeele P. Autophagy: for better or for worse. *Cell Res.*, 2012, vol. 22, no. 1, pp. 43–61. doi: 10.1038/cr.2011.152
173. Yoon J.Y., An D.R., Yoon H.J., Kim H.S., Lee S.J., Im H.N., Jang J.Y., Suh S.W. High-resolution crystal structure of Streptococcus pyogenes γ -NAD⁺ glycohydrolase in complex with its endogenous inhibitor IFS reveals a highly water-rich interface. *J. Synchrotron Radiat.*, 2013, vol. 20, no. 6, pp. 962–967. doi: 10.1107/S0909049513020803
174. Yoshida J., Takamura S., Suzuki S. Cell growth inhibitory action of SAGP, an antitumor glycoprotein from Streptococcus pyogenes (Su strain). *Jpn J. Pharmacol.*, 1987, vol. 5, no. 2, pp. 143–147.
175. Yoshino M., Murayama S.Y., Sunaoshi K., Wajima T., Takahashi M., Masaki J., Kurokawa I., Ubukata K. Nonhemolytic Streptococcus pyogenes isolates that lack large regions of the sag operon mediating streptolysin S production. *J. Clin. Microbiol.*, 2010, vol. 48, no. 2, pp. 635–638. doi: 10.1128/JCM.01362-09
176. Yu C.E., Ferretti J.J. Frequency of the erythrogenic toxin B and C genes (speB and speC) among clinical isolates of group A streptococci. *Infect. Immun.*, 1991, vol. 59, no. 1, pp. 211–215. doi: 10.1128/IAI.59.1.211-215.1991
177. Zhang Y., Liang Z., Glington K., Ploplis V.A., Castellino F.J. Functional differences between Streptococcus pyogenes cluster 1 and cluster 2b streptokinases are determined by their beta-domains. *FEBS Lett.*, 2013, vol. 587, no. 9, pp. 1304–1309. doi: 10.1016/j.febslet.2013.02.033
178. Zhu H., Liu M., Sumbly P., Lei B. The secreted esterase of group a streptococcus is important for invasive skin infection and dissemination in mice. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, no. 12, pp. 5225–5232. doi: 10.1128/IAI.00636-09
179. Zingaretti C., Falugi F., Nardi-Dei V., Pietrocola G., Mariani M., Liberatori S., Gallotta M., Tani Ch., Speziale P., Grandi G., Margarit I. Streptococcus pyogenes SpyCEP: a chemokine-inactivating protease with unique structural and biochemical features. *FASEB J.*, 2010, vol. 24, no. 8, pp. 2839–2848. doi: 10.1096/fj.09-145631

Авторы:

Бурова Л.А., д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии, ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;
Тотолян Артем А., академик РАН, д.м.н., главный научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Burova L.A., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Department of Molecular Microbiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;
Totolian Artem A., RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Head Researcher, Department of Molecular Microbiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 16.04.2021
Принята к печати 30.10.2021

Received 16.04.2021
Accepted 30.10.2021

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *STREPTOCOCCUS* ПРИ РАЗВИТИИ ПАРОДОНТИТА

И.В. Бажутова, Д.Д. Исмагуллин, А.В. Лямин, Д.А. Трунин, А.В. Жестков, В.А. Разумный

ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Самара, Россия

Резюме. Бактерии рода *Streptococcus* являются одними из самых многочисленных и разнообразных представителей нормального биоценоза органов и систем организма человека, в частности в значительном количестве они постоянно населяют ротовую полость. Все стрептококки разделены на шесть групп: *S. mitis*, *S. anginosus*, *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. bovis* и *S. pyogenes*, в которых имеется определенное количество потенциальных участников инфекционного процесса при развитии пародонтитов. Благодаря наличию широкого арсенала факторов адгезии, инвазии и колонизации они способны выполнять защитную функцию в форме, например, колонизационной резистентности, но также могут быть и причиной формирования патологического процесса в тканях зуба и зубочелюстной системы. К наиболее выраженным факторам адгезии можно отнести следующие: антигены I/II (Ag I/II), фибронектин, коллаген, ламинин, фибриноген-связывающие белки, богатые серином гликопротеины, пили, белок М, протеазы, С5а пептидазы и наличие капсулы. В комплексе протеолитических ферментов важно отметить наличие у стрептококков гиалуронидазы — фермента из класса лиаз, который расщепляет связь β 1,4 между N-ацетилглюкозамином и d-глюкуроновой кислотой, являющихся компонентами гиалуроновой кислоты, входящей в состав соединительных тканей. У представителей *S. anginosus* имеется способность выделять хондроитинсульфатазу, разрушающую хондроитинсульфаты, являющиеся специфическими компонентами хрящей, связок и других соединительнотканых структур. Перечисленные ферменты способствуют более глубокому распространению микроорганизмов в тканях. В настоящее время пародонтит рассматривается как комплексный процесс, в развитии которого принимают участие несколько важных элементов, включая инфекционный агент, ответную реакцию макроорганизма в виде неспецифического и адаптивного иммунитета. В научной литературе большая часть работ посвящена участию представителей «красного», «оранжевого» и «зеленого» комплексов как главных компонентов развития пародонтитов. В то же время «желтый» совместно с «пурпурным» комплексом выполняют в большей степени протективную роль, выступая в качестве антагонистов при взаимодействии с пародонтопатогенами, однако не стоит исключать возможной роли некоторых представителей, в частности *S. intermedius*, *S. gordonii*, *A. odontolyticus*, *A. naeslundii*, в развитии пародонтита. Все это создает проблему, решение которой возможно лишь исходя из мультидисциплинарного подхода, с привлечением не только стоматологов и бактериологов, но и врачей других специальностей. При подготовке обзора использовались источники литературы из международных и отечественных баз данных Scopus, Web of Science, Springer, РИНЦ.

Ключевые слова: стрептококки, факторы патогенности, пародонтопатогенные комплексы, пародонтит, клиническое значение, патогенез.

Адрес для переписки:

Исмагуллин Данир Дамирович
443079, Россия, г. Самара, ул. Гагарина, 18,
ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский
университет Минздрава РФ.
Тел.: 8 (846) 260-33-61.
E-mail: danirhalitov@mail.ru

Contacts:

Danir D. Ismatullin
443079, Russian Federation, Samara, Gagarina str., 18,
Samara State Medical University of the Ministry of Health of Russia.
Phone: +7 (846) 260-33-61.
E-mail: danirhalitov@mail.ru

Для цитирования:

Бажутова И.В., Исмагуллин Д.Д., Лямин А.В., Трунин Д.А., Жестков А.В.,
Разумный В.А. Клиническое значение представителей рода
Streptococcus при развитии пародонтита // Инфекция и иммунитет. 2022.
Т. 12, № 1. С. 51–58. doi: 10.15789/2220-7619-CSO-1698

Citation:

Bazhutova I.V., Ismatullin D.D., Lyamin A.V., Trunin D.A., Zhestkov A.V.,
Razumnyj V.A. Clinical significance of Streptococcus members in developing
periodontitis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya
i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 51–58. doi: 10.15789/2220-7619-CSO-1698

CLINICAL SIGNIFICANCE OF STREPTOCOCCUS MEMBERS IN DEVELOPING PERIODONTITIS

Bazhutova I.V., Ismatullin D.D., Lyamin A.V., Trunin D.A., Zhestkov A.V., Razumnyj V.A.

Samara State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Samara, Russian Federation

Abstract. Bacteria of the genus *Streptococcus* are one of the most numerous and diverse representatives in the normal biocenosis of human organs and systems particularly being abundant as obligatory inhabitants of the oral cavity. All streptococci are divided into six groups: *S. mitis*, *S. anginosus*, *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. bovis* and *S. pyogenes*, among which their certain number may potentially participate in the infectious process of developing periodontitis. Owing to the presence of a wide range of adhesion, invasion and colonization factors, they are capable of performing a protective function such as colonization resistance, but they may also cause formation of a pathological process in the tooth tissues and dento-facial system. The most prominent adhesion factors are antigens I/II (Ag I/II), fibronectin, collagen, laminin, fibrinogen binding proteins, serine-rich glycoproteins, pili, protein M, proteases, C5a peptidases, and the presence of a tooth capsule. Among the complex of proteolytic enzymes, it is important to note that streptococci contain enzymes hyaluronidase and lyase, which cleave the β 1,4 bond between N-acetylglucosamine and d-glucuronic acid as the components of hyaluronic acid being a part of the connective tissues. The members of the *S. anginosus* group are able to release chondroitin sulfatase, which destroys chondroitin sulfates as specific components in cartilage, ligaments and other connective tissue structures. The enzymes noted contribute to a deeper spread of microorganisms in host tissues. Pathological processes associated with the development of periodontitis comprise a complex problem, wherein several important elements take part, including an infectious agent, a macroorganismal response in the form of nonspecific and adaptive immunity, as well as involvement of anti-inflammatory components. A great number of studies in research literature are dedicated to describe to participation of the members within the “red”, “orange” and “green” complexes as the principal components in developing periodontitis. Whereas the “yellow” and the “purple” complex play a more protective role by acting as antagonists while interacting with periodontopathogens, but it should not be ruled out a potential participation for some representatives, particularly *S. intermedius*, *S. gordonii*, *A. odontolyticus*, *A. naeslundii* in developing periodontal disease. Altogether, it poses a problem, which may be solved solely based on a multidisciplinary approach by inviting not only dentists and bacteriologists but also researchers of other specialties. Here we review the studies found in international and national data bases such as Scopus, Web of Science, Springer, RSCI.

Key words: *Streptococcus*, pathogenic factors, periodontal pathogenic complexes, periodontitis, clinical significance, pathogenesis.

Введение

Бактерии рода *Streptococcus* семейства *Streptococcaceae* отряда *Lactobacillales* являются одними из самых многочисленных представителей нормального биоценоза различных органов и систем человека. В большом количестве бактерии этого рода присутствуют на поверхностях слизистых оболочек тела человека и являются постоянными условно-патогенными резидентами верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и кожи [55].

Наиболее распространенная классификация стрептококков основана на проявлении гемолитической активности при культивировании на кровяном агаре, в соответствии с которой они подразделяются на альфа-, бета- и гамма-гемолитические виды. Альфа-гемолиз связан с продукцией стрептококками перекиси водорода и образованием метгемоглобина, что приводит к гемолизу зеленоватого оттенка, бета-гемолитические штаммы вызывают полный лизис эритроцитов, и на границах роста бактерий среда обесцвечивается, гамма-гемолиз не приводит к видимым изменениям питательной среды [5, 15, 16].

Стрептококки, обладающие альфа-гемолитической активностью, ранее относили к груп-

пе *Viridans*, в которой преобладают представители нормальной микробиоты слизистых оболочек. Дополнительно к классификации по способности вызывать разного рода гемолиз на кровяном агаре все стрептококки можно разделить на группы по генетической гетерогенности, выявляемой при использовании 16S рПНК-секвенирования: *S. mitis*, *S. anginosus*, *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. bovis* и *S. pyogenes* [19, 23]. В связи с тем что представители группы *S. pyogenes* не описаны как возбудители заболеваний пародонта и их выделение характерно при специфических видах инфекционной патологии, в данной статье подробная информация о них представлена не будет.

В группу *S. mitis* входят следующие представители: *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. parasanguinis*, *S. gordonii*, *S. cristatus*, *S. oralis*, *S. infantis*, *S. peroris*, *S. australis*, *S. sinensis*, *S. orisratti*, *S. oligofermentans*, *S. massiliensis*, *S. pseudopneumoniae* и *S. pneumoniae*. Участники данной группы являются постоянными обитателями слизистой оболочки полости рта, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и кожи [60, 62]. В научной литературе описана их клиническая роль при выделении из крови, особенно у иммунокомпromетированных пациентов. Также в результате использования зубных щеток и нитей или при хирургических и инвазивных манипуляци-

ях в ротовой полости возможно развитие транзитной бактериемии, вызванной этой группой микроорганизмов. При наличии факторов риска у данных пациентов возможно развитие инфекционного процесса в виде бактериального эндокардита [12, 24].

В состав группы *S. anginosus* входят *S. anginosus*, *S. constellatus* и *S. intermedius* — комменсалы ротоглотки, мочеполовой системы и желудочно-кишечного тракта. Резиденты данной группы могут принимать участие в формировании абсцессов различной локализации: в мозговых оболочках, печени, легких, селезенке [39, 47, 35].

Также, по данным литературы, описаны случаи гнойных инфекций в брюшной полости, вызванных представителями группы *S. anginosus* [26]. *S. intermedius* и *S. constellatus* нередко выделяются при микробиологическом исследовании зубного налета. Их обнаружение может быть связано с развитием заболеваний пародонта за счет способности к синтезу гиалуронидазы и хондроитинсульфатазы [21, 41]. Следует отметить, что несмотря на наличие у *S. anginosus* способности разрушать компоненты соединительной ткани и вызывать гнойные инфекции, до сих пор нет единого мнения о роли данного комплексобразующего вида в качестве возбудителя пародонтопатогенных процессов.

Группа *S. salivarius* включает в себя два вида, выделяемые со слизистых оболочек человеческого организма: *S. salivarius* и *S. vestibularis*. Один из подвидов, *S. salivarius ssp. thermophilus*, встречается преимущественно в молочных продуктах. Оба представителя группы *S. salivarius* могут быть причиной эндокардита, особенно у пациентов после кардиологических операций. Однако в большей степени данная группа микроорганизмов выполняет роль элементов микробиоценоза, обеспечивающих колонизационную резистентность в ротовой полости. Их микрoэкологическая функция на слизистых оболочках полости рта реализуется за счет синтеза бактериоцинов совместно с ферментами декстраназой и уреазой, способными ингибировать развитие зубного налета. Имеются данные о доказанной эффективности пробиотического штамма *S. salivarius* при пероральном приеме для подавления роста и развития кариесогенных стрептококков [7].

Группа *S. mutans* включает следующие микроорганизмы: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. criceti*, *S. rattii*, *S. downei*, *S. ferus*, *S. macacae*, *S. hyovaginalis* и *S. devriesei*. Из перечисленных чаще остальных из клинического материала при патологии зубочелюстной системы выделяются *S. mutans* и *S. sobrinus*, которые принято считать основными этиологическими агентами при развитии кариеса зубов [58]. Значительно реже при исследовании материала от человека встречаются

S. criceti, *S. rattii* и *S. downei*, в то время как другие виды стрептококков группы *S. mutans* (*S. ferus*, *S. macacae*, *S. hyovaginalis* и *S. devriesei*) выделяют при исследовании материала от животных.

Во многом вирулентность *S. mutans* и *S. sobrinus* связана с биохимическими свойствами, которые позволяют этим организмам колонизировать и размножаться на поверхности зубов. Эти свойства включают выработку внеклеточных полисахаридов, таких как глюканы, которые позволяют бактериям прочно адгезироваться к поверхности зуба и вызывать деминерализацию эмали [29, 57].

В группу *S. bovis* дополнительно к основному виду входят *S. equinus*, *S. gallolyticus*, *S. infantarius* и *S. alactolyticus*. Представители этой группы часто выделяются при культивировании крови пациентов с бактериемией, сепсисом и эндокардитом. В основном инфекции, вызванные данной группой микроорганизмов, связаны с сопутствующими иммуносупрессивными заболеваниями и полимикробной бактериемией. Также описаны случаи выделения представителей группы *S. bovis*, связанных с заболеваниями желчевыводящих путей и поджелудочной железы [11, 13]. *S. infantarius* чаще всего ассоциируется с раком желчных протоков и желчевыводящих путей. Остальные представители этой группы в основном выделяются при доброкачественных заболеваниях желчевыводящих путей в меньшей степени и преимущественно у пожилых пациентов [33, 52].

Факторы патогенности

Исходя из вышесказанного, очевидно, что со стрептококками связано значительное количество инфекций человека различной локализации. Следовательно, они обладают определенным набором факторов, благодаря которым они имеют способность вызывать ту или иную патологию в тропных клетках, тканях, органах и системах макроорганизма. В первую очередь это факторы адгезии, их наличие позволяет стрептококкам закрепляться на различных субстратах. К ним относятся антигены I/II (Ag I/II), фибронектин, коллаген, ламинин, фибриноген-связывающие белки, богатые серином гликопротеины, пили, белок М, протеазы, С5а пептидаза, капсула [2, 3, 10, 28, 30, 32, 38].

Большая часть этих адгезинов находится на поверхности клеточной стенки, среди них имеются белки семейства антигенов I/II (Ag I/II). Антигены также способствуют прикреплению к поверхности зуба, а именно к коллагенам, фибронектину и ламинину, входящим в состав тканей. Наиболее часто эти антигены обнаруживаются у *S. pyogenes*, *S. suis*

и *S. agalactiae* [27]. При изучении роли данных факторов патогенности были проведены исследования по иммунизации мышей рекомбинантными фрагментами антигена Spy1325, который относится к тому же семейству антигенов, что и Ag I/II. Иммунизация способствовала снижению адгезии оральными стрептококками; возможно, в перспективе данные препараты могут быть использованы для профилактики одонтогенных заболеваний, вызванных стрептококками [59].

Важную роль в качестве факторов адгезии и колонизации играет фибронектин-связывающий белок, синтезируемый всеми видами стрептококков. Он участвует в связующей цепи между стрептококками и клетками макроорганизма, благодаря прикреплению к внеклеточному матриксу — фибронектину [50]. Эта молекула может выполнять функцию инвазивна, позволяющего стрептококкам проникать в эпителиоциты и эндотелиальные клетки кровеносных сосудов и лимфатической системы, что обеспечивает уклонение от механизмов врожденного иммунитета [53].

По аналогии богатые серином гликопротеины, синтезируемые стрептококками, позволяют скрываться от иммунной защиты и распространяться по организму посредством связывания и адгезии с тромбоцитами, что может рассматриваться как один из основных факторов нарушения микроциркуляции в тканях [44]. М-белки, экспрессируемые на поверхности бактериальной клетки, принято считать одним из основных факторов вирулентности и иммуногенности стрептококков, обеспечивающих провоспалительную реакцию и подавляющих фагоцитарную активность [43, 48].

Енолаза — гликолитический фермент, находящийся в цитоплазме бактериальной клетки, действие которого может способствовать разрушению эпителиальных барьеров и непосредственной инвазии патогена в ткани [14]. Протеазы, синтезируемые стрептококками, способны к неизбирательному разрушению белков внеклеточного матрикса, включая фибронектин, цитокины, хемокины, компоненты комплемента и иммуноглобулины [8, 32]. Пептидаза С5а способна к ферментативному разрушению компонента С5а комплемента человека, подавляя при этом иммунный ответ [50]. Перечисленные ферменты способствуют эффективной длительной инвазии и колонизации стрептококками клеток организма.

Наличие в составе гиалуронидаз и лиаз, расщепляющих связь $\beta 1 \rightarrow 4$ между N-ацетилглюкозамином и D-глюкуроновой кислотой, способствует более быстрому и глубокому распространению стрептококков в тканях. Особенно важно отметить способность неко-

торых представителей группы *S. anginosus* выделять хондроитинсульфатазу, разрушающую хондроитинсульфаты, которые являются специфическими компонентами хрящей, связок и других соединительнотканых структур [17, 18, 37].

Клиническое значение в стоматологии

Благодаря наличию разнообразного арсенала факторов патогенности, набора адгезивных, инвазивных и колонизационных компонентов стрептококки одними из первых заселяют ротовую полость человека после рождения. Первоначально обеспечивая функцию колонизационной резистентности из-за быстрого и активного заселения слизистых оболочек, они реализуют протективную деятельность, направленную на эффективную конкуренцию с патогенными микроорганизмами [1]. Параллельно с этим они обладают высокой биохимической активностью, которая позволяет ферментировать углеводные субстраты до различного рода кислот в качестве конечных продуктов. С одной стороны, это увеличивает их способность ингибировать размножение конкурентных микроорганизмов, в том числе патогенных, с другой — обеспечивает поражение тканей зуба [25].

Изменение pH в кислую сторону увеличивает вероятность развития кариеса зубов. Доказано, что данный процесс связан с микроорганизмом *S. mutans*, резистентным к воздействию кислот. Кроме *S. mutans* участие в процессе образования кариеса принимает патоген *S. sobrinus*. Необходимо отметить, что в целом вирулентность стрептококков зависит от их биохимической активности, симбиотических и антагонистических особенностей сосуществования с другими представителями орофарингеальной флоры [46].

Среди представителей нормальной микрофлоры полости рта имеются микроорганизмы, в результате жизнедеятельности которых из мочевины образуется аммиак, нейтрализующий закисление среды в ротовой полости и тем самым уменьшающий вероятность развития кариеса. Совместно с *S. gordonii*, обладающим алкализующей способностью, они образуют некоего рода конгломерат, который позволяет им поддерживать кислотно-основное состояние ротовой полости, необходимое для их нормальной жизнедеятельности, и тем самым косвенным образом снижают вероятность развития кариеса. Однако с другой стороны, *S. gordonii* рассматривается рядом авторов в качестве одного из триггеров в развитии патологических процессов в пародонте [4, 31].

В 2012 г. была запущена программа с использованием 16S рРНК-секвенирования в качестве основного метода исследования для изучения микробиоты 18 локусов тела человека. Это исследование позволило с абсолютной уверенностью говорить о явном доминировании стрептококков, колонизирующих все участки ротовой полости, включая мягкие ткани и секрет слюнных желез. В научной литературе довольно часто описываются исследования по детальному микробиологическому анализу зубного налета. Обитающие в нем микроорганизмы участвуют в формировании наиболее распространенных заболеваний ротовой полости — кариеса и пародонтита. В одном из исследований, целью которого являлось проведение сравнения микробиоты наддесневых бляшек из здоровых и кариозных участков, были получены следующие результаты: в дентине при патологии содержались ацидирующие виды стрептококков, а именно *S. mutans*, помимо них также были обнаружены *S. wiggsiae*, *P. denticolens* и *L. salivarius* [42].

При изучении микробиоты поддесневых бляшек были идентифицированы *S. parasanguinis*, *S. sanguinis*, *S. mitis* и *S. infantis*, которые являются антагонистами патогенной флоры при гингивитах и пародонтитах и часто обнаруживаются при исследовании здоровых участков поддесневого налета [61].

В пораженных участках при пародонтите наблюдалось снижение «нормальных» стрептококков и увеличение протеолитических ферментов, активно вырабатываемых *P. gingivalis*. Также указано о значении *S. constellatus* и *S. intermedius* при развитии пародонтита [40].

Увеличение доступности такого рода исследований позволяет более детально разобраться в причинах формирования микробных сообществ и их влияния на физиологическое функционирование тканей ротовой полости. На настоящий момент изучению распространенности и оценке уровня заболеваемости зубочелюстной системы посвящено довольно много исследований. Кариозные заболевания занимают лидирующие позиции среди заболеваний взрослого населения; по данным ВОЗ, заболеваемость колеблется от 80 до 98%, и с каждым годом эти показатели возрастают. Помимо кариеса высока вероятность развития заболеваний пародонта, в частности гингивита и пародонтита [36].

Пародонтит — это инфекционное заболевание, включающее взаимодействие между несколькими участниками процесса: микроорганизмами полости рта, физиологическими особенностями ротовой полости (особенностями трофики тканей, врожденными заболеваниями) в частности и всего организма в целом

(коморбидными состояниями, иммуносупрессиями различной этиологии) [54, 56].

В патогенезе развития пародонтита также можно выделить особенности местного и системного клеточного и гуморального иммунного ответа макроорганизма, наличие зубного камня, факторы окружающей среды, образ жизни и привычки пациента [5]. Клинически пародонтит проявляется деструкцией тканей зуба [6]. Говорить о том, что существует абсолютная однозначность патогенеза пародонтита, довольно сложно, но имеются доказательства, что во многом это проблема изменения микробного пейзажа. На сегодняшний день пародонтопатогенные микроорганизмы разделены на несколько вариантов микробных комплексов [45, 49]:

— «красный» комплекс включает *P. gingivalis*, *T. denticola* и *T. forsythia* (ранее *B. forsythus*). Представители комплекса обладают высокой агрессивностью и метаболической активностью в отношении соединительнотканых структур пародонта, в том числе костной ткани альвеолярного отростка, что может привести к хронической инфекции, прогрессирующему разрушению костной ткани пародонта, частичной или полной потере зубов [34];

— «оранжевый» комплекс состоит из *Campylobacter* spp., *F. nucleatum*, *P. intermedia/nigrescens*, *P. micros*, *E. nodatum*, *S. constellatus*. Этот комплекс микроорганизмов содержит потенциальные патогены для тканей пародонта, их наличие сопровождается быстро прогрессирующим течением болезни. В норме они в незначительной концентрации присутствуют в ротовой полости, но могут интенсивно размножаться при изменении микробиологического состояния слизистой оболочки рта, принимая активное участие в возникновении патологических состояний в тканях пародонта. В литературе отмечено, что красный и оранжевый комплексы тесно взаимосвязаны, их представители могут принимать совместное участие в развитии заболеваний пародонта [22];

— «зеленый» комплекс состоит из *A. actinomycetemcomitans* (серотип А), *C. concisus* и *E. corrodens*, *Campylobacter* spp. и способствует выраженной деструкции тканей пародонта, воспалению слизистой оболочки ротовой полости и твердых тканей зубов [51];

— «желтый» комплекс включает *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. intermedius*, *S. gordonii*;

— «пурпурный» комплекс включает *V. parvula*, *A. odontolyticus*, *A. actinomycetemcomitans* (серотип В), *S. noxia*, *A. naeslundii* [49].

Желтый комплекс совместно с пурпурным выполняют в большей мере протективную роль,

выступая в качестве антагонистов при взаимодействии с пародонтопатогенами, однако не стоит исключать возможного участия некоторых представителей, в частности *S. intermedius*, *S. gordonii*, *A. odontolyticus*, *A. naeslundii*, в развитии пародонтита [9].

Все представители комплексов способны принимать участие в формировании зубного налета. Одними из первых бактерий, формирующих биопленку на поверхности зубов, являются виды грамположительных факультативных микроорганизмов представителей родов *Streptococcus* и *Actinomyces*, которые входят в «желтый» и «пурпурный» пародонтопатогенные комплексы. После адгезирования этими микроорганизмами поверхности зуба происходит постепенное и послойное формирование зубного налета, и чем многослойнее будет биопленка, тем меньше доступа к кислороду в этой среде будет в глубже лежащих слоях. Это приводит к формированию бескислородных условий и присоединению облигатно-анаэробной флоры; переходным, связующим и ключевым звеном в этом процессе чаще всего служат бактерии, которые входят в «оранжевый» комплекс: *F. nucleatum*, *P. intermedia/nigrescens*, *P. micros*, *E. nodatum*, *S. constellatus* [20].

Поэтапное смещение в анаэробные условия может привести к формированию и прогрессированию гингивита в пародонтит за счет присоединения микроорганизмов из «красного» пародонтопатогенного комплекса: *P. gingivalis*, *T. denticola* и *T. forsythia*. После этого возможно присоединение остальных представителей комплексов. В особенности необходимо отметить участие в агрессивном быстропрогрессирующем развитии пародонтита *A. actinomycetemcomitans* (серотип А), представителя «зеленого» комплекса, который является частой причиной развития пародонтита у молодых людей [51]. Параллельно с этим со стороны макроорганизма идет ответная реакция, увеличение провоспалительных медиаторов: IL-1 β , простагландинов и TNF α [28]. Клинически данные процессы проявляются в виде покраснения участка воспаления, повреждения и кровоточивости десен.

Изменения качественного и количественного микробиологического состава пародонта может привести к острому или хроническому воспалению тканей.

Заключение

На основании приведенных фактов необходимо отметить каждого участника в развитии инфекционных осложнений тканей пародонта как составной части комплексного процесса. Бактерии рода стрептококков являются разнообразной и неоднородной группой, большая часть из которой представлена комменсалами ротовой полости, являющимися антагонистами в отношении патогенных микроорганизмов. Однако стоит отметить, что помимо этого некоторые представители группы *S. anginosus*, а именно *S. constellatus*, *S. intermedius*, и группы *S. mitis*, в частности *S. gordonii*, являются полноценными участниками воспалительных процессов тканей зуба. Не стоит также исключать возможное участие близкородственных видов групп *S. anginosus* и *S. mitis*.

Разделение возбудителей пародонтитов на комплексы было проведено в 1998 г., когда методы выделения и идентификации близкородственных видов были ограничены. В связи с этим имеются противоречивые данные о роли некоторых видов, с одной стороны, а с другой, в настоящее время недостаточно информации о роли других микроорганизмов, имеющих значительное филогенетическое родство с известными патогенами [49]. Появление современных методов культивирования и идентификации микроорганизмов во многом позволяет решить проблемы, связанные с определением «новых» этиологических агентов, клиническое значение которых в развитии заболеваний пародонта в настоящее время не изучено.

Таким образом, патологические процессы, связанные с развитием пародонтита и других заболеваний зубочелюстной системы, являются комплексной проблемой. Ее решение возможно с помощью мультидисциплинарного подхода, с привлечением не только стоматологов и бактериологов, но и врачей других специальностей.

Список литературы/References

1. Baca-Castañón M.L., De la Garza-Ramos M.A., Alcázar-Pizaña A.G., Grondin Y., Coronado-Mendoza A., Sánchez-Najera R.I., Cárdenas-Estrada E., Medina-De la Garza C.E., Escamilla-García E. Antimicrobial effect of lactobacillus reuteri on cariogenic bacteria *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mutans*, and periodontal diseases *Actinomyces naeslundii* and *Tannerella forsythia*. *Probiotics Antimicrob. Proteins*, 2015, vol. 7, no. 1, pp. 1–8. doi: 10.1007/s12602-014-9178-y
2. Barnard J.P., Stinson M.W. The alpha-hemolysin of *Streptococcus gordonii* is hydrogen peroxide. *Infect. Immun.*, 1996, vol. 64, no. 9, pp. 3853–3857. doi: 10.1128/IAI.64.9.3853-3857.1996
3. Bartold P.M., Van Dyke T.E. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontol.* 2000, 2013, vol. 62, no. 1, pp. 203–217. doi: 10.1111/j.1600-0757.2012.00450.x
4. Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D., Wescombe P.A. Influence of the probiotic streptococcus salivarius strain m18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J. Med. Microbiol.*, 2013, vol. 62, pp. 875–884. doi: 10.1099/jmm.0.056663-0

5. Chávez de Paz L., Svensäter G., Dahlén G., Bergenholtz G. Streptococci from root canals in teeth with apical periodontitis receiving endodontic treatment. *Oral Surg. Oral. Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 2005, vol. 100, no. 2, pp. 232–241. doi: 10.1016/j.tripleo.2004.10.008
6. Corredoira J., Alonso M.P., García-Garrote F., García-Pais M.J., Coira A., Rabuñal R., Gonzalez-Ramirez A., Pita J., Matesanz M., Velasco D., López-Álvarez M.J., Varela J. Streptococcus bovis group and biliary tract infections: an analysis of 51 cases. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2014, vol. 20, no. 5, pp. 405–409. doi: 10.1111/1469-0691.12333
7. Dadon Z., Cohen A., Sztrenlicht Y.M., Assous M.V., Barzilay Y., Raveh-Brawer D., Yinnon A.M., Munter G. Spondylodiskitis and endocarditis due to Streptococcus gordonii. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 2017, vol. 16, no. 1: 68. doi: 10.1186/s12941-017-0243-8
8. Dekker J.P., Lau A.F. An update on the Streptococcus bovis group: classification, identification, and disease associations. *J. Clin. Microbiol.*, 2016, vol. 54, no. 7, pp. 1694–1699. doi: 10.1128/JCM.02977-15
9. Jakubovics N.S., Yassin S.A., Rickard A.H. Community interactions of oral streptococci. *Adv. Appl. Microbiol.*, 2014, vol. 87, pp. 43–110. doi: 10.1016/B978-0-12-800261-2.00002-5
10. Jenkinson H.F., Lamont R.J. Oral microbial communities in sickness and in health. *Trends Microbiol.*, 2005, vol. 13, no. 12, pp. 589–595. doi: 10.1016/j.tim.2005.09.006
11. Jensen A., Hoshino T., Kilian M. Taxonomy of the Anginosus group of the genus Streptococcus and description of Streptococcus anginosus subsp. whileyi subsp. nov. and Streptococcus constellatus subsp. viborgensis subsp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2013, vol. 63, no. 7, pp. 2506–2519. doi: 10.1099/ijs.0.043232-0
12. Jensen A., Ladegaard Grønkvær L., Holmstrup P., Vilstrup H., Kilian M. Unique subgingival microbiota associated with periodontitis in cirrhosis patients. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8, no. 1: 10718. doi: 10.1038/s41598-018-28905-w
13. Kawamura Y., Hou X.-G., Sultana F., Miura H., Ezaki T. Determination of 16S rRNA sequences of Streptococcus mitis and Streptococcus gordonii and phylogenetic relationships among members of the genus Streptococcus. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1995, vol. 45, no. 2, pp. 406–408. doi: 10.1099/00207713-45-2-406
14. Kim S.L., Gordon S.M., Shrestha N.K. Distribution of streptococcal groups causing infective endocarditis: a descriptive study. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2018, vol. 91, pp. 269–272. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.02.015
15. Laupland K.B., Ross T., Church D.L., Gregson D.B. Population-based surveillance of invasive pyogenic streptococcal infection in a large Canadian Region. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2006, vol. 12, no. 3, pp. 224–230. doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01345.x
16. Mahmoud M.Y., Demuth D.R., Steinbach-Rankins J.M. BAR-encapsulated nanoparticles for the inhibition and disruption of Porphyromonas gingivalis-Streptococcus gordonii biofilms. *J. Nanobiotechnology*, 2018, vol. 16, no. 1: 69. doi: 10.1186/s12951-018-0396-4
17. Matesanz M., Rubal D., Iñiguez I., Rabuñal R., García-Garrote F., Coira A., García-Pais M.J., Pita J., Rodriguez-Macias A., López-Álvarez M.J., Alonso M.P., Corredoira J. Is Streptococcus bovis a urinary pathogen? *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2015, vol. 34, pp. 719–725. doi: 10.1007/s10096-014-2273-x
18. Mohanty R., Asopa S.J., Joseph M.D., Singh B., Rajguru J.P., Saidath K., Sharma U. Red complex: polymicrobial conglomerate in oral flora: a review. *J. Family Med. Prim. Care*, 2019, vol. 8, no. 11, pp. 3480–3486. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_759_19
19. Nazir M.A. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int. J. Health. Sci. (Qassim)*, 2017, vol. 11, no. 2, pp. 72–80.
20. Pérez-Chaparro P.J., Gonçalves C., Figueiredo L.C., Faveri M., Lobão E., Tamashiro D.P., Feres M. Newly identified pathogens associated with periodontitis: a systematic review. *J. Dent. Res.*, 2014, vol. 93, no. 9, pp. 846–858. doi: 10.1177/0022034514542468
21. Prasad K.N., Mishra A.M., Gupta D., Husain N., Husain M., Gupta R.K. Analysis of microbial etiology and mortality in patients with brain abscess. *J. Infect.*, 2006, vol. 53, no. 4, pp. 221–227. doi: 10.1016/j.jinf.2005.12.002
22. Rams T.E., Degener J.E., van Winkelhoff A.J. Antibiotic resistance in human chronic periodontitis microbiota. *J. Periodontol.*, 2014, vol. 85, no. 1, pp. 160–169. doi: 10.1902/jop.2013.130142
23. Rams T.E., Feik D., Mortensen J.E., Degener J.E., van Winkelhoff A.J. Antibiotic susceptibility of periodontal Streptococcus constellatus and Streptococcus intermedius clinical isolates. *J. Periodontol.*, 2014, vol. 85, no. 12, pp. 1792–1798. doi: 10.1902/jop.2014.130291
24. Richards V.P., Alvarez A.J., Luce A.R., Bedenbaugh M., Mitchell M.L., Burne R.A., Nascimento M.M. Microbiomes of site-specific dental plaques from children with different caries status. *Infect. Immun.*, 2017, vol. 85, no. 8: e00106-17. doi: 10.1128/IAI.00106-17
25. Shaikh H.F., Patil S.H., Pangam T.S., Rathod K.V. Polymicrobial synergy and dysbiosis: an overview. *J. Indian. Soc. Periodontol.*, 2018, vol. 22, pp. 101–106. doi: 10.4103/jisp.jisp_385_17
26. Shelburne S.A., Davenport M.T., Keith D.B., Musser J.M. The role of complex carbohydrate catabolism in the pathogenesis of invasive streptococci. *Trends Microbiol.*, 2008, vol. 16, no. 7, pp. 318–325. doi: 10.1016/j.tim.2008.04.002
27. Sibley C.D., Grinwis M.E., Field T.R., Parkins M.D., Norgaard J.C., Gregson D.B., Rabin H.R., Surette M.G. McKay agar enables routine quantification of the 'Streptococcus milleri' group in cystic fibrosis patients. *J. Med. Microbiol.*, 2010, vol. 59, no. 5, pp. 534–540. doi: 10.1099/jmm.0.016592-0
28. Silva N., Abusleme L., Bravo D., Dutzan N., Garcia-Sesnich J., Vernal R., Hernández M., Gamonal J. Host response mechanisms in periodontal diseases. *J. Appl. Oral. Sci.*, 2015, vol. 23, no. 3, pp. 329–355. doi: 10.1590/1678-775720140259
29. Smeesters P.R., McMillan D.J., Sriprakash K.S. The streptococcal M protein: a highly versatile molecule. *Trends Microbiol.*, 2010, vol. 18, pp. 275–282. doi: 10.1016/j.tim.2010.02.007
30. Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C., Kent R.L. Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J. Clin. Periodontol.*, 1998, vol. 25, no. 2, pp. 134–144. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x
31. Suprith S.S., Setty S., Bhat K., Thakur S. Serotypes of Aggregatibacter actinomycetemcomitans in relation to periodontal status and assessment of leukotoxin in periodontal disease: a clinico-microbiological study. *J. Indian. Soc. Periodontol.*, 2018, vol. 22, no. 3, pp. 201–208. doi: 10.4103/jisp.jisp_36_18.

32. Van Samkar A., Brouwer M.C., Pannekoek Y., van der Ende A., van de Beek D. Streptococcus gallolyticus meningitis in adults: report of five cases and review of the literature. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2015, vol. 21, pp. 1077–1083. doi: 10.1016/j.cmi.2015.08.003
33. Yamaguchi M., Terao Y., Kawabata S. Pleiotropic virulence factor-streptococcus pyogenes fibronectin-binding proteins. *Cell Microbiol.*, 2013, vol. 15, pp. 503–511. doi: 10.1111/cmi.12083
34. Zhang S., Green N.M., Sitkiewicz I., Lefebvre R.B., Musser J.M. Identification and characterization of an antigen I/II family protein produced by group a streptococcus. *Infect. Immun.*, 2006, vol. 74, pp. 4200–4213. doi: 10.1128/IAI.00493-06

Авторы:

Бажутова И.В., к.м.н., доцент кафедры стоматологии института профессионального образования ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Самара, Россия;

Исмагуллин Д.Д., ассистент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Самара, Россия;

Лямин А.В., к.м.н., доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Самара, Россия;

Трунин Д.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой стоматологии института профессионального образования ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Самара, Россия;

Жестков А.В., заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Самара, Россия;

Разумный В.А., д.м.н., профессор кафедры стоматологии института профессионального образования ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Самара, Россия.

Authors:

Bazhutova I.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Dentistry, Institute of Professional Education, Samara State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Samara, Russian Federation;

Ismatullin D.D., Assistant Professor, Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Samara State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Samara, Russian Federation;

Lyamin A.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Samara State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Samara, Russian Federation;

Trunin D.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Dentistry, Institute of Professional Education, Samara State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Samara, Russian Federation;

Zhestkov A.V., Honored Worker of Science of the Russian Federation, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Samara State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Samara Russian Federation;

Razumnyj V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Dentistry, Institute of Professional Education, Samara State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Samara, Russian Federation.

Поступила в редакцию 11.03.2021
Отправлена на доработку 31.10.2021
Принята к печати 21.11.2021

Received 11.03.2021
Revision received 31.10.2021
Accepted 21.11.2021

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА, ВЫДЕЛЕННЫХ У РЕЦИПИЕНТОВ СОЛИДНЫХ ОРГАНОВ

О.Е. Ванькова, Н.Ф. Бруснигина

ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

Резюме. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) остается одной из главных проблем современного здравоохранения. Она относится к категории социально и экономически значимых инфекций, поражает как детей, так и взрослых, характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и многообразием путей и факторов передачи. Серьезной проблемой является заражение цитомегаловирусом (ЦМВ) реципиентов крови и органов. Следует отметить, что несмотря на большую медицинскую и социальную значимость инфекции система эпидемиологического надзора и контроля за ЦМВИ в том виде, в котором она существует применительно к другим актуальным инфекциям, в РФ отсутствует. Цель исследования — провести поиск оптимальных вариантов генотипирования цитомегаловирусов и оценку генотипового разнообразия российских изолятов ЦМВ, выделенных у пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов. В статье представлены результаты исследования образцов крови, лейкоцитарной массы, слюны, мочи и слезного отделяемого, взятых у 160 пациентов отделения трансплантологии Приволжского окружного медицинского центра ФМБА в возрасте от 22 до 64 лет, перенесших трансплантацию печени и почек. Для тестирования образцов применялись молекулярно-биологические и серологические методы. Генотипирование проводили путем NGS-секвенирования фрагментов ДНК ЦМВ. Установлена высокая частота выявления ДНК ЦМВ у пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов. У $41,8 \pm 3,8\%$ пациентов была обнаружена ДНК цитомегаловируса в образцах слюны и мочи, а у $18,1 \pm 3,04\%$ из них — в образцах крови. У $98,8 \pm 3,2\%$ пациентов диагноз «Цитомегаловирусная инфекция» был подтвержден серологически. По результатам анализа литературы проведена оценка различных методических подходов к генотипированию клинических изолятов ЦМВ. В результате был подобран и апробирован на клинических образцах вариант типирования, основанный на определении генотипов по двум вариабельным генам — *UL55 (gB)*, *UL73 (gN)*. Определены спектры и долевого распределение gB- и gN-генотипов ЦМВ, циркулирующих среди взрослых. Установлено, что в группе пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов, преобладают генотипы gB2, gN4c, gN4a и gN1. В некоторых случаях обнаружена смешанная инфекция, обусловленная ассоциацией двух и трех генотипов ЦМВ. Проведенный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73* свидетельствует о генетической гетерогенности российских изолятов ЦМВ, выделенных у взрослых пациентов группы риска.

Ключевые слова: цитомегаловирус, цитомегаловирусная инфекция, трансплантация солидных органов, генотипирование, частота встречаемости.

Адрес для переписки:

Ванькова Ольга Евгеньевна
603950, Россия, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71,
ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.
Тел.: 8 920 022-63-80.
E-mail: vov0@mail.ru

Contacts:

Olga E. Vankova
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod,
Malaya Yamskaya str., 71, Blokhina Scientific Research Institute
of Epidemiology and Microbiology.
Phone: +7 920 022-63-80.
E-mail: vov0@mail.ru

Для цитирования:

Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф. Генотипирование клинических изолятов цитомегаловируса, выделенных у реципиентов солидных органов // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 59–68. doi: 10.15789/2220-7619-GCC-1653

Citation:

Vankova O.E., Brusnigina N.F. Genotyping clinical cytomegalovirus isolates in solid-organs-transplant recipients // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 59–68. doi: 10.15789/2220-7619-GCC-1653

GENOTYPING CLINICAL CYTOMEGALOVIRUS ISOLATES IN SOLID-ORGANS-TRANSPLANT RECIPIENTS

Vankova O.E., Brusnigina N.F.

Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. Cytomegalovirus infection remains one of the leading problems in contemporary healthcare. It belongs to socially and economically significant infections with a high incidence both in children and adults, characterized by polymorphic clinical manifestations and a variety of routes and factors for infection transmission. CMV infection of blood and organ recipients is a serious problem. It should be noted that, despite the great medical and social significance, in the Russian Federation there is no system of CMV epidemiological surveillance and control as it was traditionally developed for other topical infections. The aim of this study is to search for optimal method of cytomegalovirus (CMV) genotyping and estimate genotypic diversity of CMV isolates in Russia for patients underwent solid organ transplantation. The research presents the data after examining blood samples, leukocytes, saliva, urine and lacrimal discharge collected from 160 patients at the Transplantation Department of the Privolzhsky District Medical Center of the FMBA, aged 22 to 64 years, after liver and kidney transplantation. Molecular biological and serological methods were used for testing. Genotyping was carried out by the NGS sequencing of CMV DNA fragments. A high prevalence of CMV was found in patients undergoing solid organ transplantation. For $41.8 \pm 3.8\%$ patients, cytomegalovirus DNA was detected in saliva and urine samples, and for $18.1 \pm 3.04\%$ of them — in blood samples. In $98.8 \pm 3.2\%$ of patients, the diagnosis of Cytomegalovirus infection (CMVI) was confirmed serologically. Based on a summary of reported data, estimation of various methodological approaches for genotyping of clinical CMV isolates was carried out. As a result, a typing option based on genotype determining for two variable genes *UL55 (gB)* and *UL73 (gN)* was selected. The spectra and proportional distribution of gB and gN CMV genotypes circulating among adults were determined. It was found that genotype prevalence in the group of patients who underwent solid organ transplantation was as follows: gB2, gN4c, gN4a, gN1. In some cases, a mixed infection was found due to the association of two and three CMV genotypes. The performed phylogenetic analysis of *UL55* and *UL73* gene nucleotide sequences indicates the genetic heterogeneity found for Russia-wide CMV isolates from in adult patients in the risk group.

Key words: *cytomegalovirus, cytomegalovirus infection, solid organ transplantation, genotyping, prevalence.*

Введение

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) остается одной из главных проблем современного здравоохранения. Она относится к категории социально и экономически значимых инфекций, поражает как детей, так и взрослых и характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и многообразием путей и факторов передачи. Одной из областей с высоким риском поражения цитомегаловирусом (ЦМВ) является трансплантация органов, поскольку фактором передачи инфекции служит не только перелитая кровь, но и пересаживаемый орган. Пациенты, перенесшие трансплантацию органов, нуждаются в приеме иммуносупрессивных препаратов, что повышает риск инфицирования ЦМВ и развития инфекции. По данным литературы, частота выявления цитомегаловируса у пациентов, перенесших трансплантацию печени, варьирует от 23 до 85%, при этом у 15–40% из них развивается активная форма ЦМВИ [2, 9, 11].

Исследования зарубежных авторов свидетельствуют о том, что штаммы ЦМВ человека являются близкородственными. Гомология ДНК различных штаммов составляет 90–95%. Генетические различия среди ЦМВ-штаммов равномерно распределены по всему геному, но в отдельных регионах наблюдается высокий уровень мутаций. Эти области находятся

в строго определенных участках вирусного генома, что гарантирует существование четких геномных вариантов, или «генотипов» [4].

Полиморфные гены используются как эпидемиологический маркер при изучении циркуляции вируса в человеческой популяции [15]. В ряде работ показано, что геномные варианты ЦМВ-штаммов из различных географических регионов могут быть идентичными, существенно отличаются лишь показатели частоты их встречаемости [3]. Исследования, направленные на определение циркулирующих в Российской Федерации генотипов ЦМВ, необходимы как для получения объективной информации о региональных особенностях распространения, так и для решения различных задач эпидемиологического надзора за ЦМВИ, а также для оценки целесообразности применения разрабатываемых за рубежом вакцин.

Цель исследования — поиск оптимальных вариантов генотипирования цитомегаловирусов и оценка генотипового разнообразия клинических изолятов ЦМВ, выделенных у пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов.

Материалы и методы

В исследование были включены образцы биологических субстратов (кровь, лейкоцитарная масса, слюна, моча, слезное отделяемое),

поступившие из отделения трансплантологии Приволжского окружного медицинского центра ФМБА от 160 пациентов, перенесших трансплантацию печени и почек. От всех пациентов было получено информированное согласие на участие в исследовании. Отбор и транспортировку клинического материала во ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной проводили сотрудники Приволжского окружного медицинского центра ФМБА России в соответствии с МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

Детекцию ДНК ЦМВ осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени с применением коммерческих диагностических тест-систем «АмплиСенс CMV-FL» производства ЦНИИЭ (Москва). Выделение ДНК проводили с использованием коммерческих наборов «ДНК-сорб-АМ» и «ДНК-сорб-В» (ЦНИИЭ, Москва) в соответствии с инструкцией по применению. Чувствительность тест-систем согласно паспортным данным составляет 1000 вирионов в 1 мл образца.

Серологические исследования проводили с использованием наборов реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов G и M к ЦМВ производства АО «Вектор-Бест» (Новосибирск) ВектоЦМВ-IgG (РУ № ФСР 2012/13834) и ВектоЦМВ-IgM (РУ № ФСР 2012/13931).

Для генотипирования были отобраны 16 образцов ДНК ЦМВ от пациентов, перенесших трансплантацию органов. Секвенирование участков генома ЦМВ выполнено с применением технологии высокопроизводительного секвенирования (NGS) на платформе MiSeq (Illumina, США).

Концентрацию ДНК в образцах определяли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, Австрия) с использованием набора Qubit DNA HS Assay Kit (Invitrogen, США). Подготовку библиотеки ДНК для секвенирования осуществляли с использованием набора Nextera XT DNA Sample Preparation Kit (Illumina, США) согласно инструкции производителя. Оценку качества подготовленной библиотеки ДНК для секвенирования определяли с использованием флуориметра Qubit и автоматизированной системы капиллярного гель-электрофореза QIAxcel Advanced System (Qiagen, Германия), набора реагентов для быстрого разделения фрагментов ДНК QIAxcel DNA Fast Analysis Kit (3000) (Qiagen, Германия) и программного обеспечения QIAxcel ScreenGel (Qiagen, Германия). Секвенирование проводили с использованием набора MiSeq Reagent Kit v2 (Illumina, США) на 500 циклов.

Выравнивание и сборку полученных коротких чтений относительно референс-генома осуществ-

ляли с использованием встроенного в секвенатор программного обеспечения. Для выравнивания нуклеотидных последовательностей использовали программу CLC Genomics Workbench 5.5 (CLC bio, США).

В качестве референс-последовательностей были выбраны последовательности генов *UL55 (gB)*, *UL73 (gN)* штаммов ЦМВ с известными геномами, взятыми из базы данных GenBank: GQ466044, HCU66425, HS5GLYBM, HS5GLYBL, HS5GLYBK, X04606, GQ221975, X17403, BK000394, FJ527563, HS5GLYBI, GQ121041, AY446894, M60929, HCU66425, GQ466044, EU686456, EU686440, AF309995, AF224677, AF390785, AF309993, AF309987, EU686430, AF390802, AF309986, AF309975, AF309974, AF310006, AF309988, AF309980, AF309975, AF309969, GU647095, GU441773, GU376726, GU376725, GU376724, GU376723, GU376721, GU376720. Визуализацию и анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения UGENE Unipro.

Анализ последовательности генов *UL55(gB)* и *UL73(gN)* ЦМВ проводили с использованием алгоритма BLAST и пакета программ, представленных на сервере NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы Clustal X 2.0 (<http://bips.ustrasbg.fr/fr/Documentation/ClustalX>) [12].

Филогенетический анализ исследуемых нуклеотидных последовательностей генов и построение филогенетических деревьев проводили с использованием программного обеспечения MEGA 10.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакетов статистических программ Stata, Statistica 6.0.

Результаты

Результаты проведенного исследования показали высокую частоту выявления ЦМВ у пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов, в различных биологических субстратах. У 67 (41,8±3,8%) пациентов — реципиентов органов обнаружена ДНК цитомегаловируса в образцах слюны и мочи, а у 29 (18,1±3,04%) — в образцах крови. Следует отметить, что частота выявления ДНК ЦМВ у реципиентов почек была выше, чем у реципиентов печени (46,7±3,9 и 28,6±3,6% соответственно). При этом в 72,4±5,4% случаев из числа позитивных на ЦМВ была зарегистрирована клинически значимая концентрация (10^5 – 10^9 вирусных частиц/мл) ДНК ЦМВ в образцах лейкоцитарной массы. Гендерный анализ частоты обнаружения ЦМВ не выявил различий. Частота обнаружения ЦМВ в крови у мужчин после

пересадки органов составила 20,0%, а у женщин — 20,8%, в образцах слюны и мочи у мужчин — 44,0%, у женщин — 41,5%.

Диагностика ЦМВИ должна быть комплексной и включать как молекулярно-генетические методы индикации ЦМВ, так и серологические методы исследования. Диагноз ЦМВИ был подтвержден серологически: антитела класса G выявлены у 98,8±3,2% пациентов, перенесших пересадку солидных органов. Антитела класса M были выявлены у 12,2±3,4% пациентов, при этом ДНК ЦМВ обнаружена у 36,6±14% IgM-позитивных пациентов. Согласно данным литературы, ЦМВИ относится к инфекциям с нетипичной динамикой антителообразования, при которой наличие специфических IgM не является достоверным и достаточным признаком для определения стадии заболевания [22]. Для дифференциации первичной ин-

фекции и реинфекции (реактивации) принято использовать индекс avidности IgG в комплексе с другими серологическими маркерами ЦМВИ. В проведенном нами исследовании было показано, что все образцы являются высокоавидными. Низкоавидные анти-IgG были идентифицированы лишь в одном образце.

С целью поиска оптимального алгоритма генотипирования клинических изолятов ЦМВ был проведен анализ данных литературы. В результате были выбраны и апробированы на контрольном штамме ЦМВ AD169 несколько пар праймеров: для гена *UL55* — 14 пар, для гена *UL73* — 5 пар. Критериями отбора были соответствие праймеров анализируемой области гена, качество нарабатываемого фрагмента, оптимальная температура отжига праймеров, размер получаемого фрагмента. Характеристика последовательностей праймеров для генотипирования ЦМВ, опубликованных различными авторами, представлена в табл. 1.

Для проведения генотипирования ЦМВ по генам *UL55* (*gB*) и *UL73* (*gN*) были отобраны праймеры, предложенные Chou S. с соавт. в 1991 г. и Pignatelli S. с соавт. в 2003 г. соответственно [4, 18]. В табл. 2 представлен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей, отобранных праймеров и 7 референс-штаммов ЦМВ, зарегистрированных в международной базе GenBank.

Таблица 1. Характеристика праймеров, использованных для генотипирования ЦМВ

Table 1. Characterization of primers used for CMV genotyping

Последовательность праймеров Primer sequence	Источник Source
gB up1 5'-tggaactggaacggttggc-3' gB lo1 5'-gcacctgacgctggttgg-3' gB lo1a 5'-gaaacgcgcggcaatcgg-3'	[6]
gB up2 5'-gatctcctggatatacaggacg-3' gB lo2 5'-gaatygctgarggyttgatctg-3' gB up3 5'-acrttctgggaagcctcggaacg-3' gB lo3 5'-gagttcctgaagaccttag-3'	[1]
gB up4 5'-cctcatcgctgctggatt-3' gB lo4 5'-tgactcccaccacatctc-3' gB up5 5'-atctggcccgcgacgaacat-3' gB lo5 5'-ctccgtacttgaggtagtg-3'	[21]
gBNF 5'-ggatctggtgctggtagtc-3' gBNR 5'-cgaataagatccgtaccctg-3' CLZ F 5'-tgttctggaaggtatcaagaa-3' CLZ R 5'-gtgaactgcagctggcgta-3'	[10]
gB1 forward 5'-tcaccattctctctacgac-3' gB1 reverse 5'-caccatggctgaccgttgg-3' gB2 forward 5'-cttaaggtacgggtctaccaa-3' gB2 reverse 5'-gaactgtagcattggcaaac-3' gB3 forward 5'-ccggtgtgaactccacg-3' gB3 reverse 5'-gattcgcttccargyagcagg-3' gB4 forward 5'-tcgtgcaactctactcataatg-3' gB4 reverse 5'-cgttacgcgttgaggagat-3'	[7]
gB F 5'-tggaactggaacggttggc-3' gB R 5'-gcacctgacgctggttgg-3'	[4]
gN up 5'-tggtgtgatggagtgaac-3' gN lo 5'-tagccttgggtggttgc-3'	[13]
gN105672F 5'-cgcgacagtaccagttgaga-3' gN106306R 5'-ctacacctacgtcaccatc-3' gN105672F 5'-cgcgacagtaccagttgaga-3' gN106179R 5'-cttaccgccgggaacac-3'	[10]
gNF 5'-ttgggtcggtcaacatcgtaag-3' gNR 5'-ggtggttcagtaagttctgga-3'	[18]

Таблица 2. Сравнение отобранных праймеров для генов *UL55* (*gB*) и *UL73* (*gN*) с нуклеотидными последовательностями семи референсных штаммов ЦМВ

Table 2. Comparison between the selected primers for the genes *UL55* (*gB*) and *UL73* (*gN*) and the nucleotide sequences from 7 reference CMV strains

Праймер gB Primer gB	tggaactggaacggttggc	gcacctgacgctggttgg
fix-bac	tggaactggaacggttggc	gcacctgacgctggttgg
toledo	tggaactggaacggttggc	gcacctgacgctggttgg
ad169	tggaatggaacggttggc	gcacctgacgctggttgg
towne	tggaactcgaacggttggc	gcacctgacgctggttgg
merline	tggaactcgaacggttggc	gcacctgacgctggttgg
tr-bac	tggaactcgaacggttggc	gcacctgacgctggttgg
davis	tggaactcgaacggttggc	gcacctgacgctggttgg
Праймер gN Primer gN	tggtgtgatggagtgaac	gcaaccaccaccaaggcta
fix-bac	tggtgcgatggagtgaac	gcaaccaccaccaaggcta
toledo	tggtcgatggagtgaac	gcgaccaccaccaaggcta
ad169	tggtgtgatggagtgaac	gcaaccaccaccaaggcta
towne	tggtgtgatggagtgaac	gcaaccaccaccaaggcta
merline	tggtgtgatggagtgaac	gcgaccaccaccaaggcta
tr-bac	tggtgtgatggagtgaac	gcaaccaccaccaaggcta
davis	tggtgtgatggagtgaac	gcaaccaccaccaaggcta

На рис. 1 и 2 представлены результаты сравнения референсных нуклеотидных последовательностей ДНК фрагментов генов *UL55(gB)* и *UL73(gN)*. Отобранные участки генов характеризуются высоким уровнем варибельности, что позволяет разделить изоляты на генотипы, при этом в местах отжига праймеров количество замен минимально.

Анализ результатов секвенирования фрагментов гена *UL55* позволил выявить следующее распределение gB-генотипов ЦМВ, циркулирующих среди пациентов, перенесших пересадку солидных органов: gB2, gB1, gB3, gB4, при этом доминировал генотип gB2 (57%). У одного пациента была обнаружена инфекция, обусловленная

одновременным присутствием изолятов ЦМВ, принадлежащих к двум генотипам: gB3 и gB4.

Анализ результатов секвенирования фрагментов гена *UL73* клинических изолятов ЦМВ, выделенных у реципиентов солидных органов, позволил выявить следующие генотипы: gN4c, gN4a, gN1, gN4b, gN3b, при этом доминировали три генотипа — gN4c (38,4%), gN4a (23%) и gN1 (23%).

Следует отметить, что у некоторых пациентов была обнаружена ЦМВ-инфекция, обусловленная одновременным присутствием нескольких gN-генотипов ЦМВ. Так, у реципиентов печени определены ассоциации генотипов gN4c, gN4b и gN3b, gN4a и gN1, а у двух реципиентов почек — gN4c и gN1, gN4c и gN4a.

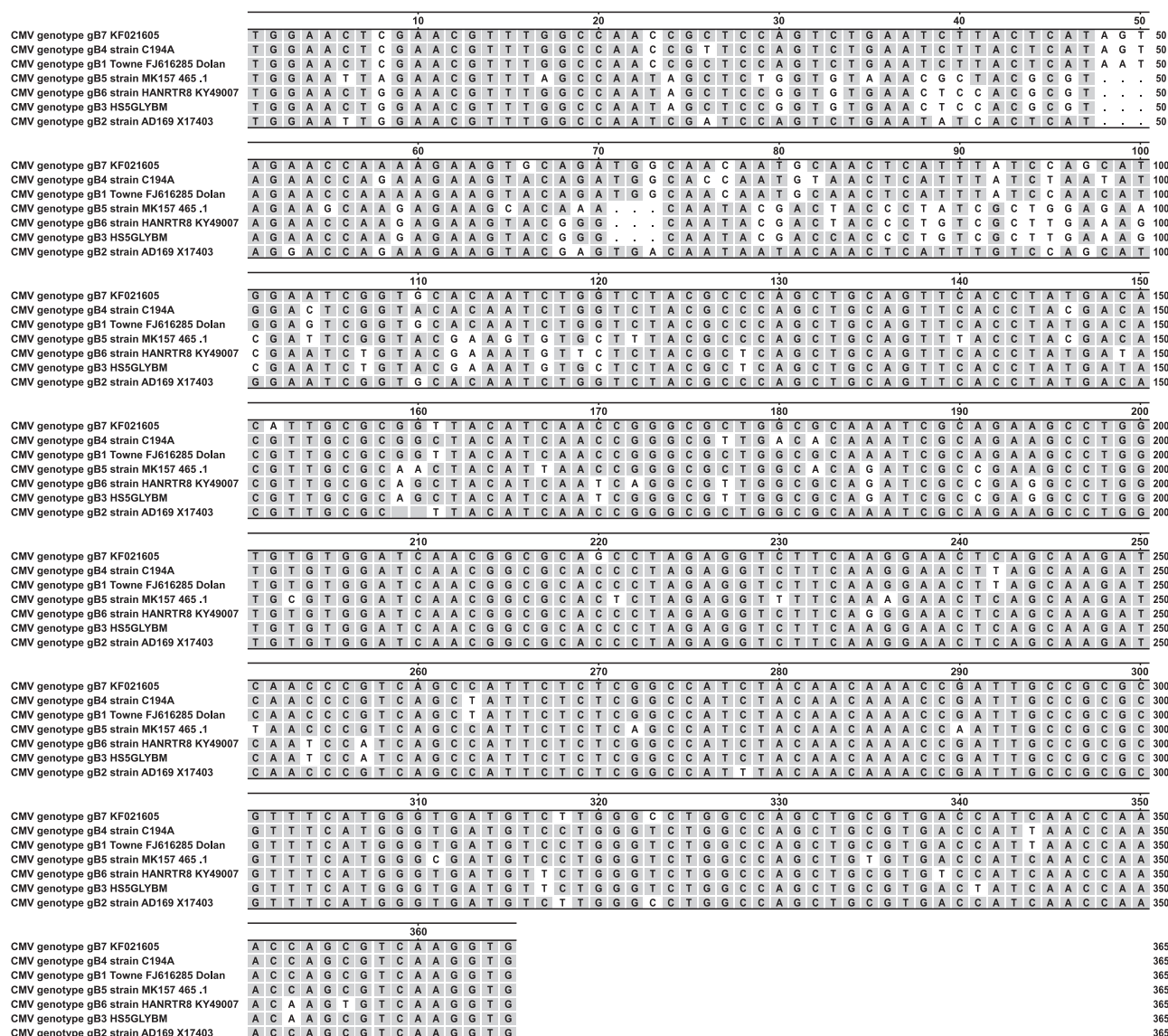


Рисунок 1. Сравнение референсных последовательностей ЦМВ разных генотипов gB в анализируемой области

Figure 1. Comparison of CMV reference sequences for diverse gB genotypes in the analyzed region

Примечание. Сравнение проведено с использованием пакета программ DNASTAR Lasergene 11 (США, 2018).

Note. The comparison was carried out using the software package DNASTAR Lasergene 11 (USA, 2018).

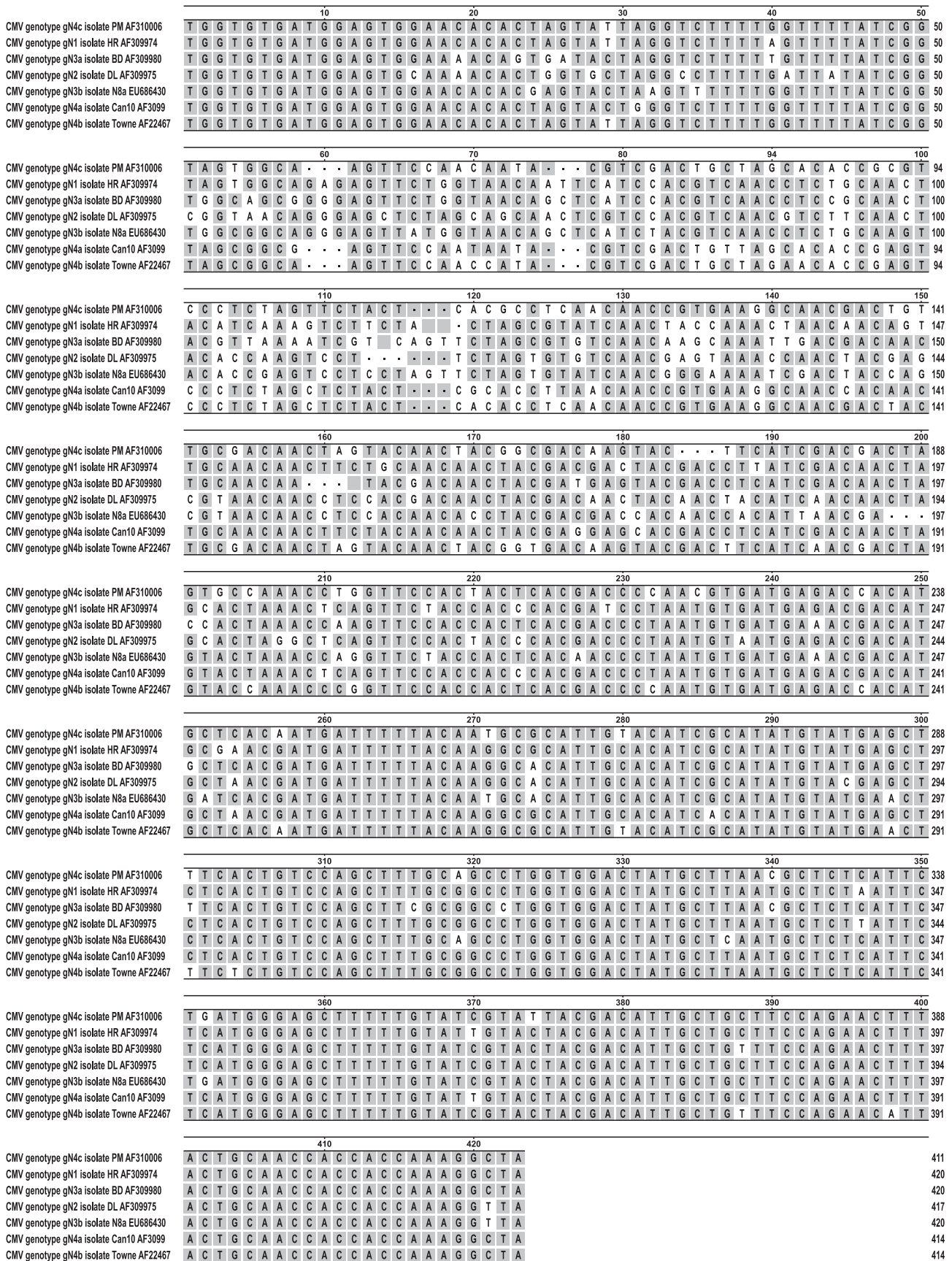


Рисунок 2. Сравнение референсных нуклеотидных последовательностей ЦМВ разных генотипов gN
 Figure 2. Comparison of CMV reference nucleotide sequences for diverse gN genotypes

Примечание. Сравнение проведено с использованием пакета программ DNASTAR Lasergene 11 (США, 2018).
 Note. The comparison was carried out using the software package DNASTAR Lasergene 11 (USA, 2018).

С целью определения эволюционного разнообразия исследуемых клинических изолятов ЦМВ, выделенных у реципиентов солидных органов, был проведен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73*. Для сравнительного анализа из международной базы данных GenBank были отобраны нуклеотидные последовательности гена *UL55* (*gB*) 49-ти референс-штаммов и клинических изолятов, циркулирующих в разных странах Европы (Италии, Испании, Бельгии, Великобритании), США, Китае, Мексике, Индии, Египте, а также последовательности гена *UL73* (*gN*) 46-ти референс-штаммов и клинических изолятов, циркулирующих в странах Европы (Италии, Испании, Великобритании), США, Китае, Индии.

На рис. 3 представлены дендрограммы нуклеотидных последовательностей гена *UL55*

(*gB*) и гена *UL73* (*gN*) исследуемых и депонированных в базе данных GenBank/NCBI изолятов ЦМВ, выделенных у реципиентов солидных органов, построенные с использованием метода максимального правдоподобия.

Обсуждение

Проведенные исследования позволили выявить широкую распространенность цитомегаловирусной инфекции у пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов. Так, ДНК ЦМВ была обнаружена у $46,7 \pm 3,9\%$ пациентов, перенесших пересадку почки, и у $28,6 \pm 3,6\%$ реципиентов печени, что согласуется с данными аналогичных исследований [9, 11, 16, 23]. Следует отметить, что уровень серопозитивности у подавляющего большинства реципиентов солидных органов был достоверно высоким

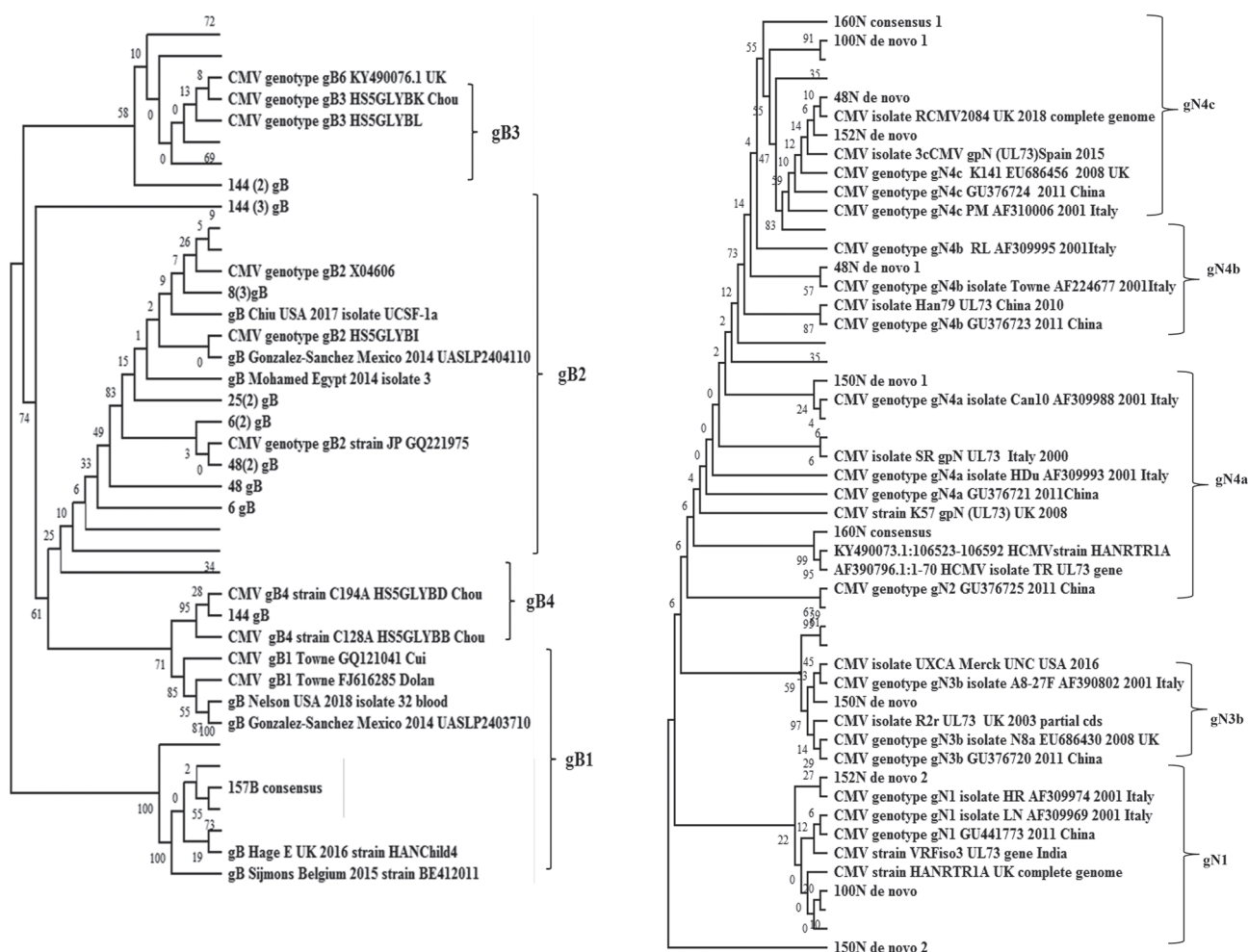


Рисунок 3. Дендрограммы нуклеотидных последовательностей генов *UL55* (*gB*) и *UL73* (*gN*) исследуемых и депонированных в базе данных GenBank/NCBI изолятов ЦМВ, построенные с использованием метода максимального правдоподобия

Figure 3. Phylogenetic analysis for the genes *UL55* (*gB*) and *UL73* (*gN*) from CMV isolates studied and deposited in the GenBank/NCBI database, the phylogenetic tree was constructed using Maximum Likelihood method

Примечание. Цифры в узлах дерева обозначают уровень поддержки, полученный с помощью метода rapid bootstrap. Note. The numbers in the tree nodes represent the support level obtained using the rapid bootstrap method.

и составил $98,8 \pm 3,2\%$ ($p \leq 0,05$). Антитела класса IgM были выявлены у $12,2 \pm 3,4\%$, при этом среди IgM-позитивных пациентов не у всех была обнаружена ДНК вируса. Установлено, что все IgG-антитела в исследуемых образцах от реципиентов органов являлись высокоавидными, и лишь у одного пациента были обнаружены низкоавидные IgG-антитела, что свидетельствовало о наличии у него первичной ЦМВИ.

В данном исследовании был проведен анализ различных подходов к типированию ДНК ЦМВ, предлагаемых в литературе. В результате нами был подобран и апробирован на клинических образцах вариант типирования ДНК ЦМВ, основанный на определении генотипов gB и gN. Сравнительный анализ частоты встречаемости этих генотипов в странах мира, включая Россию (по результатам наших собственных исследований), представлен в табл. 3.

В настоящее время в зарубежной литературе накоплено большое количество данных о распространенности различных геновариантов ЦМВ, циркулирующих у пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов. В России работы по генотипированию ЦМВ до сих пор не проводились, исследования в основном были посвящены клиническим аспектам инфекции среди различных групп населения.

Полученные результаты позволили оценить генотиповую структуру популяции российских изолятов ЦМВ. Показано превалирование у пациентов, перенесших пересадку солидных ор-

ганов, четырех генотипов ЦМВ: gB2, gN4c, gN4a и gN1, что согласуется с данными литературы [5, 19]. Так, в исследовании Ciotti M. и соавт. (2017) установлено, что генотип gB2 доминировал у реципиентов органов, генотип gB4 присутствовал только при смешанных инфекциях, а у ВИЧ-инфицированных пациентов наиболее часто встречался генотип gB1 [5]. Доминирование генотипа gB2 у пациентов, перенесших пересадку костного мозга, было также показано в исследовании, проведенном в Бразилии [8].

Частота встречаемости инфекции, обусловленной одновременным присутствием ЦМВ разных генотипов, согласно полученным нами результатам варьировала от 13 до 25%. По данным литературы, показатели частоты встречаемости инфекции, обусловленной одновременным присутствием вирусов нескольких (двух и более) генотипов, варьируют от 6 до 59,6% в зависимости от величины выборки обследуемых пациентов. ЦМВ-инфекция, обусловленная вирусами двух разных генотипов, регистрируется у пациентов с иммунодефицитными состояниями различного генеза (ВИЧ-инфицированные или пациенты, перенесшие пересадку органа), а также у новорожденных с врожденной ЦМВИ [9, 17].

Проведенный филогенетический анализ гена *UL55* (gB) показал, что изоляты ЦМВ, выделенные на территории Нижнего Новгорода, филогенетически располагаются ближе к штаммам, циркулировавшим на территории

Таблица 3. Частота встречаемости различных генотипов ЦМВ в разных странах мира

Table 3. Prevalence of various CMV genotypes in different countries of the world

Пациенты, перенесшие пересадку органов Organ transplant patients	Генотип Genotype	Частота встречаемости различных генотипов, % Genotypes prevalence, %	Страна Country
По данным литературы Published data	gB	gB3 (37,39%), gB1 (36,52%), gB5 (4,35%), gB2 (2,61%), gB4 (1,74%), mix (17,39%)	Китай [24] China
		gB1 (39%), gB2 (35%), gB4 (14%), gB3 (6%), mix (6%)	Бразилия [8] Brazil
		gB1 (30%), gB3 (26%), gB2 (17%), gB4 (4%), mix (17%)	Чехия [20] Czech Republic
		gB1 (26%), gB2 (10%), gB3 (10%), gB4 (5%), mix (49%)	Канада [14] Canada
		gB2 (23,4%), gB1 (12,8%), gB3 (4,2%), mix (59,6%)	Италия [5] Italy
	gN	gN3a (16,7%), gN4a (11,7%), gN2 (9,8%), gN1 (5,9%), gN4b (8,8%), gN3b (4,9%), gN4d (2,0%), mix (40,2%)	Китай [25] China
		gN4c (29,7%), gN1 (24,3%), gN4a (18,9%), gN4b (12,2%), gN2 (5,4%), gN3b (5,4%), gN3a (4,1%)	Италия [19] Italy
	gO	gO1 (39%), gO2 (20%), gO3, gO4	Чехия [17] Czech Republic
Результаты собственных исследований Own research results	gB	gB2 (50%), gB1 (13%), gB3 (12%), gB4 (12%), mix (13%)	Россия Russia
	gN	gN4c (67%), gN4a (25%), gN1 (25%), gN4b (17%), gN3b (17%), mix (18%)	

США в 2017–2018 гг. Следует отметить, что один нижегородский изолят ЦМВ с генотипом gB3 дивергировал в отдельную ветвь и филогенетически оказался ближе к штаммам ЦМВ, выделенным в Мексике в 2012 г. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *UL73 (gN)* показал, что нижегородские клинические изоляты ЦМВ характеризовались филогенетическим родством со штаммами, выделенными на территории различных стран: США, Италии, Испании, Великобритании, Китая в период с 2001 по 2018 г. Необходимо отметить, что нижегородские изоляты ЦМВ gN4a-генотипа дивергировали в отдельную ветвь, и они филогенетически ближе к штаммам ЦМВ, выделенным в Италии в 2001 г.

Согласно полученным данным, циркулирующие на территории России штаммы ЦМВ генотипов gB и gN филогенетически оказались ближе к штаммам, выделенным в странах Европы и США в период с 2001 по 2018 г. Следует отметить, что в настоящее время за рубежом активно проводится разработка вакцин против ЦМВ, некоторые из них находятся на стадии клинических испытаний. При создании эффективной вакцины следует учитывать наличие широкого спектра генотипов ЦМВ и региональные особенности их циркуляции. В этом плане исследования, направленные на изучение генетического разнообразия циркулирующих штаммов цитомегаловируса и их молекулярно-генетическую характеристику, а также разработку алгоритмов мониторинга групп риска по ЦМВИ, являются необходимыми для оценки целесообразности применения существующих и разрабатываемых новых вакцин.

Заключение

Таким образом, получен первый опыт генотипирования российских изолятов ЦМВ на примере Нижегородской области. Проведена оценка различных методических подходов к генотипированию клинических изолятов цитомегаловируса, выделенных от взрослых — реципиентов солидных органов. Выбраны и апробированы на контрольном штамме ЦМВ AD169 несколько пар праймеров: для гена *UL55 (gB)* — 14 пар, для гена *UL73 (gN)* — 5 пар. Определены спектры и долевого распределение gB- и gN-генотипов ЦМВ, циркулирующих среди взрослых в Нижнем Новгороде. Установлено, что в группе пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов, преобладают генотипы gB2, gN4c, gN4a и gN1. В 25% случаев у пациентов группы риска обнаружена ЦМВИ, обусловленная ассоциацией двух и трех генотипов ЦМВ. Проведенный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73* свидетельствует о генетической гетерогенности нижегородских изолятов ЦМВ.

Полученные данные о генотипах ЦМВ, циркулирующих в России и, в частности, на территории Нижегородского региона, позволяют расширить информационную и методическую базу для эпидемиологического надзора за ЦМВИ и внесут существенный вклад в решение проблемы целесообразности использования на территории России разрабатываемых за рубежом вакцин против этой инфекции. Международная база данных GenBank/EMBL/DBJ пополнена нуклеотидными последовательностями генома российских изолятов цитомегаловируса (мировой уровень внедрения).

Список литературы/References

1. Barbi M., Binda S., Caroppo S., Calvario A., Germinario C., Bozzi A., Tanzi M.L., Veronesi L., Mura I., Piana A., Solinas G., Pagni L., Evilaqua G., Mosca F. CMV gB genotypes and outcome of vertical transmission: study on dried blood spots of congenitally infected babies. *J. Clin. Virol.*, 2001, vol. 21, no. 1, pp. 75–79. doi: 10.1016/S1386-6532(00)00188-8
2. Cannon M.J., Schmid D.S., Hyde T.B. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev. Med. Virol.*, 2010, vol. 20, no. 4, pp. 202–213. doi: 10.1002/rmv.655
3. Chen H.P., Lin J.C., Yang S.P., Lan Y.C., Weng W.S., Tsai C.H., Ho D.M., Liu C.Y., Cho W.L., Chan Y.J. The type-2 variant of human cytomegalovirus glycoprotein N (gN-2) is not the rarest in the Chinese population of Taiwan: influence of primer design. *J. Virol. Methods*, 2008, vol. 151, pp. 161–164. doi: 10.1016/j.jviromet.2008.03.018
4. Chou S.W., Dennison K.M. Analysis of interstrain variation in cytomegalovirus glycoprotein B sequences encoding neutralization related epitopes. *J. Infect. Dis.*, 1991, vol. 163, no. 6, pp. 1229–1234. doi: 10.1093/infdis/163.6.1229
5. Ciotti M., Cella E., Rittà M., Ciccozzi M., Cavallo R., Perno C.F., Costa C. Cytomegalovirus glycoprotein B genotype distribution in Italian transplant patients. *Intervirology*, 2017, vol. 60, no. 4, pp. 165–170. doi: 10.1159/000486593
6. De Albuquerque D.M., Costa S.C. Genotyping of human cytomegalovirus using non-radioactive single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. *J. Virol. Methods.*, 2003, vol. 9, no. 110 (1), pp. 25–28. doi: 10.1016/S0166-0934(03)00094-6
7. De Vries J.J., Wessels E., Korver A.M., van der Eijk A.A., Rusman L.G., Kroes A.C., Vossen A.C. Rapid genotyping of cytomegalovirus in dried blood spots by multiplex real-time PCR assays targeting the envelope glycoprotein gB and gH genes. *J. Clin. Microbiol.*, 2012, vol. 50, no. 2, pp. 232–237. doi: 10.1128/JCM.05253-11
8. Dieamant D.C., Bonon S.H., Peres R.M., Costa C.R., Albuquerque D.M., Miranda E.C., Aranha F.J., Oliveira-Duarte G., Fernandes V.C., De Souza C.A., Costa S.C., Vigorito A.C. Cytomegalovirus (CMV) genotype in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *BMC Infect. Dis.*, 2013, vol. 10, no. 13: 310. doi: 10.1186/1471-2334-13-310
9. Görzer I., Guelly C., Trajanoski S., Puchhammer-Stöckl E. Deep sequencing reveals highly complex dynamics of human cytomegalovirus genotypes in transplant patients over time. *J. Virol.*, 2010, vol. 84, no. 14, pp. 7195–7203. doi: 10.1128/JVI.00475-10

10. Grosjean J., Hantz S., Cotin S., Baclet M.C., Mengelle C., Trapes L., Virey B., Undreiner F., Brosset P., Pasquier C., Denis F., Alain S. Direct genotyping of cytomegalovirus envelope glycoproteins from toddler's saliva samples. *J. Clin. Virol.*, 2009, vol. 46, no. 4, pp. 43–48. doi: 10.1016/j.jcv.2009.08.018
11. Khalafkhany D., Makhdoomi K., Taghizadeh Afshari A., Motazakker M. Prevalence and genotype distribution of cytomegalovirus UL55 sequence in renal transplant recipients in north west of Iran. *J. Med. Virol.*, 2016, vol. 88, no. 9, pp. 1622–1627. doi: 10.1002/jmv.24509
12. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 2007, vol. 23, no. 21, pp. 2947–2948. doi: 10.1093/bioinformatics/btm404
13. Lisboa L.F., Tong Y., Kumar D., Pang X.L., Asberg A., Hartmann A., Rollag H., Jardine A.G., Pescovitz M.D., Humar A. Analysis and clinical correlation of genetic variation in cytomegalovirus. *Transpl. Infect. Dis.*, 2012, vol. 14, no. 2, pp. 132–140. doi: 10.1111/j.1399-3062.2011.00685.x
14. Manuel O., Asberg A., Pang X., Rollag H., Emery V.C., Preiksaitis J.K., Kumar D., Pescovitz M.D., Bignamini A.A., Hartmann A., Jardine A.G., Humar A. Impact of genetic polymorphisms in cytomegalovirus glycoprotein B on outcomes in solid-organ transplant recipients with cytomegalovirus disease. *Clin. Infect. Dis.*, 2009, vol. 15, no. 49 (8), pp. 1160–1166. doi: 10.1086/605633
15. Murthy S., Hayward S., Wheelan S., Forman M.S., Ahn J.H., Pass R.F., Arav-Boger R. Detection of a single identical cytomegalovirus (CMV) strain in recently seroconverted young women. *PLoS One*, 2011, vol. 10, no. 6 (1), pp. 149–159. doi: 10.1371/journal.pone.001594
16. Navarro-Rodríguez V., Herrera-Munoz A., Castro A., Ramos-Esquivel A. Risk factors for cytomegalovirus disease in seropositive renal transplant recipients; a single-center case-controlled study. *J. Nephropathol.*, 2017, vol. 6, no. 3, pp. 240–247. doi: 10.15171/jnp.2017.39
17. Pignatelli S. Recent knowledge on the linkage of strain specific genotypes with clinical manifestations of human cytomegalovirus disease. *Recenti. Prog. Med.*, 2011, vol. 102, no. 1, pp. 5–10.
18. Pignatelli S., Dal Monte P. Epidemiology of human cytomegalovirus strains through comparison of methodological approaches to explore gN variants. *New Microbiol.*, 2009, vol. 32, no. 1, pp. 1–10.
19. Roubalova K. Genetic variability of cytomegalovirus glycoprotein O in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transpl. Infect. Dis.*, 2011, vol. 13, no. 3, pp. 237–243. doi: 10.1111/j.1399-3062.2011.00625.x
20. Roubalová K.O., Strunecký S., Zúfanová S., Procházká B., Vitek A. Genotyping of viral glycoprotein B (gB) in hematopoietic stem cell transplant recipients with active cytomegalovirus infection: analysis of the impact of gB genotypes on the patients' outcome. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.*, 2010, vol. 59, no. 2, pp. 92–99.
21. Shepp D.H., Match M.E., Lipson S.M., Pergolizzi R.G. A fifth human cytomegalovirus glycoprotein B genotype. *Res. Virol.*, 1998, vol. 149, no. 2, pp. 109–114. doi: 10.1016/s0923-2516(98)80086-1
22. Torii Y., Yoshida S., Yanase Y., Mitsui T., Horiba K., Okumura T., Takeuchi S., Suzuki T., Kawada J.I., Kotani T., Yamashita M., Ito Y. Serological screening of immunoglobulin M and immunoglobulin G during pregnancy for predicting congenital cytomegalovirus infection. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2019, vol. 19, no. 1: 205. doi: 10.1186/s12884-019-2360-1
23. Varghese J., Subramanian S., Reddy M.S., Shanmugam N., Balajee G., Srinivasan V., Venkataraman J., Mohamed R. Seroprevalence of cytomegalovirus in donors and opportunistic viral infections in liver transplant recipients. *Indian J. Med. Res.*, 2017, vol. 145, no. 4, pp. 558–562.
24. Wu X.J., Wang Y., Zhu Z., Xu Y., He G., Han Y., Tang X., Fu Z., Qiu H., Sun A., Wu D. The correlation of cytomegalovirus gB genotype with viral DNA load and treatment time in patients with CMV infection after hematopoietic stem cell transplantation. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 2013, vol. 34, no. 2, pp. 109–112.
25. Xia C.S., Zhang Z. Analysis of human cytomegalovirus glycoprotein N genotypes in Chinese hematopoietic stem cell transplant recipients. *Arch. Virol.*, 2011, vol. 156, no. 1, pp. 17–23. doi: 10.1007/s00705-010-0811-0

Авторы:

Ванькова О.Е., старший научный сотрудник лаборатории метагеномики и молекулярной индикации патогенов ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;
Бруснигина Н.Ф., к.м.н., зав. лабораторией метагеномики и молекулярной индикации патогенов ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия.

Authors:

Vankova O.E., Senior Researcher, Laboratory of Metagenomics and Molecular Indication of Pathogens, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Brusnigina N.F., PhD (Medicine), Head of the Laboratory of Metagenomics and Molecular Indication of Pathogens, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

Поступила в редакцию 15.12.2020
 Отправлена на доработку 31.10.2021
 Принята к печати 25.12.2021

Received 15.12.2020
 Revision received 31.10.2021
 Accepted 25.12.2021

ПАТОМОРФОЛОГИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ШТАММАМИ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*, НАХОДИВШИМИСЯ В ДОРМАНТНОМ СОСТОЯНИИ

Л.М. Сомова, Б.Г. Андрюков, И.Н. Ляпун, Е.И. Дробот, О.С. Рязанова, Е.В. Матосова, М.П. Бынина, Н.Ф. Тимченко

ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия

Резюме. В 2000-х годах, с развитием научных исследований о некультивируемом (дормантном) состоянии патогенных бактерий, стали формироваться представления о персистентных, хронически рецидивирующих инфекциях, трудно поддающихся антибиотикотерапии. Однако относительно псевдотуберкулеза человека (дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки, ДСЛ) этот вопрос остается открытым. При анализе патологии псевдотуберкулеза, его клинико-эпидемического проявления в виде ДСЛ, нами выделены этиопатогенетические предпосылки рецидивирования болезни и развития персистентной инфекции. В данной работе установлено, что штаммы *Yersinia pseudotuberculosis*, находившиеся в дормантном состоянии *in vivo*, вызывали развитие в органах-мишенях своеобразного гранулематозного воспаления с выраженными реакциями гиперчувствительности замедленного типа. Для воспроизведения экспериментальной инфекции было проведено внутрибрюшинное заражение половозрелых белых мышей штаммом 512 *Y. pseudotuberculosis* серотипа I, который хранился в течение 10 лет в музее НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова и перешел в дормантное состояние. Для проведения сравнительных исследований из вегетативных бактерий штамма 512 *Y. pseudotuberculosis* была получена их дормантная форма путем воздействия большой дозы канамицина (минимальная доза антибиотика была превышена в 25 раз). Заражающая доза обеих форм бактерий составила 10^8 мк/мышь. Для гистологического исследования на 3, 7, 10, 14, 21 и 32-е сутки после заражения взяты образцы органов-мишеней (легкое, печень, селезенка). Гистологические срезы толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятым методикам. Установлено, что *in vivo* штаммы *Y. pseudotuberculosis*, находившиеся в дормантном состоянии, вызвали развитие своеобразного гранулематозного воспаления за счет реакций гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), которое характеризует защитную реакцию инфицированного организма и отражает формирование местного, тканевого иммунитета в органах-мишенях. Выявлены следующие особенности гранулематозного воспаления по сравнению с таковым при заражении вегетативными («дикими») бактериями *Y. pseudotuberculosis*: гранулемы были преимущественно мелких размеров, четко отграниченные от окружающей ткани, без деструк-

Адрес для переписки:

Сомова Лариса Михайловна
690087, Россия, г. Владивосток, ул. Сельская, 1,
ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора.
Тел./факс: 8 (423) 244-14-38.
E-mail: l_somova@mail.ru

Contacts:

Larisa M. Somova
690087, Russian Federation, Vladivostok, Selskaya str., 1,
Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology.
Phone/fax: +7 (423) 244-14-38.
E-mail: l_somova@mail.ru

Для цитирования:

Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н., Дробот Е.И., Рязанова О.С., Матосова Е.В., Бынина М.П., Тимченко Н.Ф. Патоморфология экспериментальной инфекции, вызванной штаммами *Yersinia pseudotuberculosis*, находившимися в дормантном состоянии // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 69–77. doi: 10.15789/2220-7619-POE-1674

Citation:

Somova L.M., Andryukov B.G., Lyapun I.N., Drobot E.I., Ryazanova O.S., Matosova E.V., Bynina M.P., Timchenko N.F. Pathomorphology of experimental infection caused by dormant *Yersinia pseudotuberculosis* strains // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 69–77. doi: 10.15789/2220-7619-POE-1674

ции клеток центральной зоны и формирования так называемых «гранулем с центральным кариорексисом» (по терминологии А.П. Авцына); периваскулярные инфильтраты и васкулиты состояли в основном из лимфоцитов и часто имели фолликулоподобный вид, напоминая фолликулы лимфоидных органов; в легких наблюдалась хорошо выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани, а в селезенке — фолликулярная гиперплазия, указывающая на Т-клеточную защитную реакцию. Таким образом, возбудитель псевдотуберкулеза/ДСЛ, находясь в dormant состоянии, инициирует развитие иммуноморфологических изменений защитного характера в виде продуктивного гранулематозного воспаления с реакциями местного, тканевого иммунитета в органах-мишенях и может способствовать формированию персистентной инфекции.

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, dormant состояние, экспериментальная инфекция, патоморфология, гранулематозное воспаление, персистентная инфекция.

PATHOMORPHOLOGY OF EXPERIMENTAL INFECTION CAUSED BY DORMANT *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* STRAINS

Somova L.M., Andryukov B.G., Lyapun I.N., Drobot E.I., Ryazanova O.S., Matosova E.V., Bynina M.P., Timchenko N.F.

Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. In the 2000s, with the development of scientific research on the uncultivated (dormant) state of pathogenic bacteria, the ideas about persistent, chronically recurrent infections, difficult to respond to antibiotic therapy have begun to shape. However, regarding human pseudotuberculosis (Far Eastern scarlet-like fever, FESLF), this question remains open. While analyzing the pathology of pseudotuberculosis, its clinical and epidemic manifestation as FESLF, we identified the etiopathogenetic prerequisites for the disease recurrence and development of persistent infection. In this study it was found that the strains of *Yersinia pseudotuberculosis* which were in a dormant state caused the development of a peculiar granulomatous inflammation in target organs with pronounced delayed-type hypersensitivity reactions *in vivo*. To reproduce the experimental infection, sexually mature white mice were inoculated with the strain 512 *Y. pseudotuberculosis*, serotype I stored for 10 years at the Museum of Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology and transformed into a dormant state. For comparative studies, a dormant form from vegetative bacteria of the strain 512 *Y. pseudotuberculosis* was obtained by exposure to a large dose of kanamycin (the minimum antibiotic dose was exceeded 25 times). The infecting dose of both forms of bacteria was 10^8 μ /mouse. Samples of target organs (lung, liver, spleen) were collected for histological examination on days 3, 7, 10, 14, 21 and 32 after infection. Histological sections with 3–5 μ m thickness were stained with hematoxylin and eosin according to standard techniques. It was established that strains of *Y. pseudotuberculosis* in dormant state caused *in vivo* development of a peculiar granulomatous inflammation due to delayed-type hypersensitivity reactions (DHR), which characterizes the protective reaction in infected host and reflects formation of local, tissue immunity in target organs. The peculiarities of granulomatous inflammation were revealed, in comparison with that of found during infection with vegetative (“wild”) *Y. pseudotuberculosis* bacteria, namely: the granulomas were predominantly small in size, clearly delimited from the surrounding tissue, without destruction of central zone cells and formation of the so-called “granulomas with central karyorrhesis” (terminology proposed by A.P. Avtsyn); perivascular infiltrates and vasculitis consisted mainly of lymphocytes and often had a follicle-like appearance, resembling the follicles in lymphoid organs; in the lungs, a well-marked reaction of the bronchial-associated lymphoid tissue was observed, and in the spleen, a follicular hyperplasia, indicating a T-cell defense reaction, was observed. Thus, the causative agent of *Y. pseudotuberculosis* infection/FESLF, being in a dormant state, initiates the development of immunomorphological changes of protective nature such as productive granulomatous inflammation with reactions of local tissue immunity in target organs and can contribute to the formation of persistent infection.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, dormant state, experimental infection, pathomorphology, granulomatous inflammation, persistent infection.

Введение

В 2000-х гг., с развитием научных исследований о некультивируемом (dormant) состоянии патогенных бактерий, стали формироваться представления о персистентных, хронически рецидивирующих инфекциях, трудно поддающихся антибиотикотерапии [6, 7, 9, 10],

однако относительно псевдотуберкулеза этот вопрос остается открытым. При анализе патологии псевдотуберкулеза, его клинико-эпидемического проявления в виде дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (ДСЛ), нами выделены этиопатогенетические предпосылки рецидивирования болезни и развития персистентной инфекции [3].

Нами впервые были получены данные о возможности существования *Yersinia pseudotuberculosis* в dormantном состоянии в условиях низкой температуры и показана ультраструктура dormantных форм этих бактерий как представителей одного из основных родов возбудителей сапрозоонозов (сапронозов) [5]. До сих пор в доступной литературе не удалось обнаружить сведений о патоморфологии инфекций, вызванных dormantными формами патогенных энтеробактерий, в том числе бактерий рода *Yersinia*. В связи с вышеперечисленным целью данной работы явилось патоморфологическое исследование органов-мишеней при инфекции, ассоциированной с возбудителем псевдотуберкулеза, находившимся в dormantном состоянии, в сравнении с таковыми у животных, инфицированных вегетативной формой *Y. pseudotuberculosis*.

Материалы и методы

Для воспроизведения экспериментальной инфекции было проведено внутрибрюшинное заражение половозрелых белых мышей (самок) массой 18–25 г. Животные находились на стандартной диете в боксированных помещениях с соблюдением всех правил и международных рекомендаций Европейской конвенции.

Для заражения животных был взят штамм 512 *Yersinia pseudotuberculosis*, серотип I, который хранился в течение 10 лет в музее НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова (Владивосток) под вазелиновым маслом в условиях низкой температуры, при этом его вирулентность для мышей за последний год значительно снизилась ($LD_{50} = 10^8$ м.к./мл). При электронно-микроскопическом исследовании было установлено, что бактерии этого штамма находились в dormantном состоянии: в бактериальной популяции присутствовали клетки с пустым и темным цитозолем, что указывало соответственно на полную или частичную деградацию хроматина в зоне нуклеоида [5]. Заражающая доза бактерий составила 10^8 м.к./мышь.

Для проведения сравнительных исследований из вегетативных бактерий *Y. pseudotuberculosis* штамма 512 была получена их dormantная форма путем воздействия большой дозы канамицина (минимальная доза антибиотика была превышена в 25 раз; заражающая доза обеих форм бактерий составила 10^8 м.к./мышь). Вегетативные бактериальные клетки были получены путем однократного пересева исходного (музейного) штамма 512, находившегося в dormantном состоянии, с косога агара на питательную дифференциально-диагностическую среду Серова с последующей проверкой их био-

химических и культурально-морфологических свойств, подтвердивших типичную вегетативную форму бактерий *Y. pseudotuberculosis*.

Для гистологического исследования на 3, 7, 10, 14, 21 и 32-е сутки после заражения взяты органы-мишени (легкое, печень, селезенка). Образцы органов фиксировали в 10% растворе формалина, забуференного по Лилли, обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 3–5 мкм депарафинировали, окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятым методикам.

Результаты

В опыте внутрибрюшинного заражения животных музейным штаммом 512 *Y. pseudotuberculosis*, находившимся в dormantном состоянии, начиная с 7 суток после инфицирования визуальное наблюдение показало у части животных наличие в брюшной полости большого количества мутной жидкости, в некоторых случаях — увеличение размеров и зернистость поверхности селезенки. Макроскопические изменения, типичные для псевдотуберкулезной инфекции (мелкие абсцессоподобные бугорки желтовато-серого цвета в печени и селезенке), не обнаружены.

При гистологическом исследовании на 3 сутки после заражения в селезенке обнаружена выраженная фолликулярная гиперплазия (лимфоидные фолликулы белой пульпы хорошо выражены, с отчетливыми светлыми центрами) (рис. 1А), имелось много гигантских многоядерных клеток, что указывало на антигенную стимуляцию макроорганизма. В печени выявлялись мелкоочаговые скопления мононуклеарных клеток (макрофагов, лимфоцитов) в виде узелков и вокруг сосудов (признаки гранулематозного воспаления) (рис. 1Б). В легком отмечена гиперплазия бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани, умеренная периваскулярная мононуклеарная инфильтрация.

На 7 сутки после заражения в селезенке имелись резко выраженная гигантоклеточная реакция и гиперплазия белой пульпы. В печени обнаружены многочисленные плотные мононуклеарные инфильтраты овальной формы, связанные с сосудистой стенкой (рис. 2А), мозаично распространенные дистрофические изменения гепатоцитов. В легком отмечались полнокровие сосудов, своеобразная картина гранулематозного воспаления: периваскулярные и субплевральные плотные инфильтраты из мононуклеарных клеток округлой формы (фолликулоподобный тип) (рис. 2Б), выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной

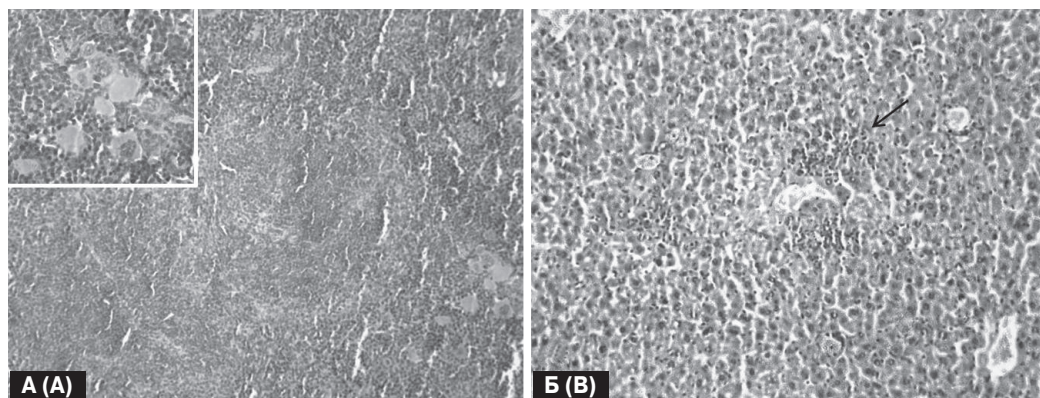


Рисунок 1. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной dormantной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 3 сутки после заражения

Figure 1. Pathohistological changes in experimental infection caused by dormant *Y. pseudotuberculosis* strain 512. 3 days postinfection

Примечания. А) фолликулярная гиперплазия в селезенке, гигантоклеточная реакция, $\times 200$, вставка $\times 600$; Б) рыхлые узелки из мононуклеарных клеток в паренхиме печени (стрелка), $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином.
Notes. A) follicular hyperplasia in the spleen, giant cell reaction, $\times 200$, insert $\times 600$; B) loose nodules of mononuclear cells in the liver parenchyma (arrow), $\times 200$. Staining with hematoxylin and eosin.

ткани с образованием крупных инфильтратов (рис. 2В). Описанные изменения варьировали по степени выраженности у разных животных.

На 10 сутки после заражения в селезенке выявлена гиперплазия с наличием крупных лимфоидных фолликулов и умеренно выраженной гигантоклеточной реакцией. В печени наблюдалось умеренно выраженное гранулематозное воспаление с наличием как крупных периваскулярных инфильтратов (у одной из трех мы-

шей) (рис. 3А), так и мелких узелков из мононуклеарных клеток в печеночной паренхиме (рис. 3Б). В легком у одной из трех мышей обнаружена значительная лимфоидная инфильтрация вокруг сосудов и бронхов в виде узелков, отграниченных от окружающей ткани.

На 14 и 21 сутки после заражения картина селезенки соответствовала таковой у контрольных (незараженных) животных. В легких обнаружена умеренная лимфоидная инфильтрация вокруг

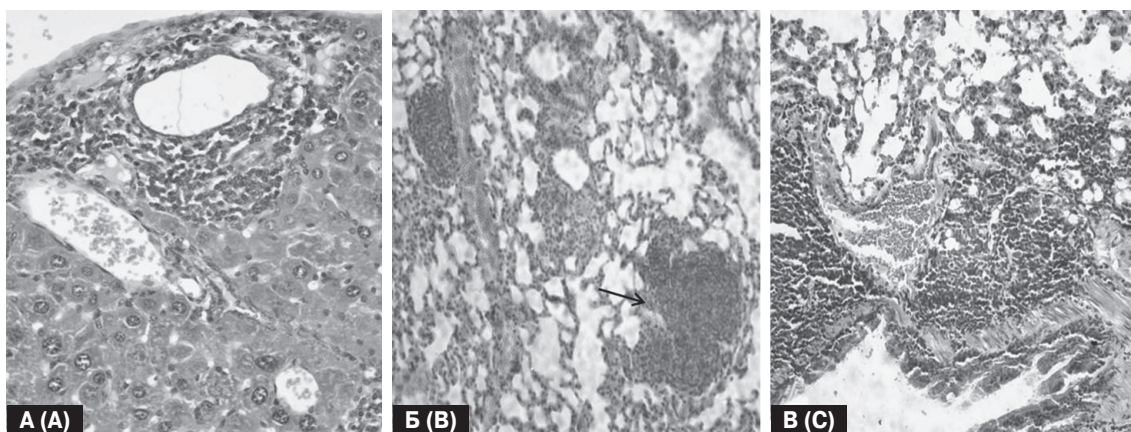


Рисунок 2. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной dormantной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 7 сутки после заражения

Figure 2. Pathohistological changes in experimental infection caused by dormant *Y. pseudotuberculosis* strain 512. 7 days postinfection

Примечания. А) мононуклеарные инфильтраты вокруг сосудов в печени, $\times 400$; Б) периваскулярные фолликулоподобные инфильтраты в легком, состоящие из мононуклеарных клеток (стрелка), $\times 200$; В) выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани в легком, $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) mononuclear infiltrates around the vessels in the liver, $\times 400$; B) lung perivascular, follicle-like infiltrates consisting of mononuclear cells (arrow), $\times 200$; C) a marked reaction of bronchial-associated lymphoid tissue in the lung, $\times 200$. Staining with hematoxylin and eosin.

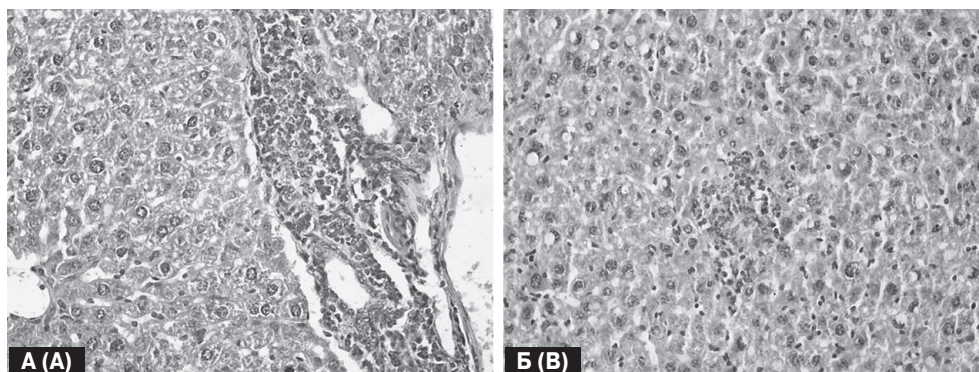


Рисунок 3. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной dormantной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 10 суток после заражения

Figure 3. Pathohistological changes in experimental infection caused by dormant strain of *Y. pseudotuberculosis* strain 512. 10 days postinfection

Примечания. А) крупный мононуклеарный инфильтрат вокруг сосудов портального тракта, $\times 400$; Б) мелкий лимфоцитарный узелок в паренхиме печени, $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) large mononuclear infiltrate around the vessels of the portal tract, $\times 400$; B) a small lymphocytic nodule in the liver parenchyma, $\times 400$. Staining with hematoxylin and eosin.

сосудов и бронхов в виде узелков, отграниченных от окружающей ткани (рис. 4А). В печени — полнокровие сосудов, рыхлая периваскулярная инфильтрация вокруг некоторых сосудов, мелкие узелки из мононуклеарных клеток.

На 32 суток после заражения у части исследованных животных сохранялись в легком плотные периваскулярные (рис. 4Б) и перибронхиальные инфильтраты, состоящие из лимфоцитов, в печени — умеренная периваскулярная инфильтрация и немногочисленные узелки из лимфоидных клеток, четко отграниченные от окружающей ткани.

В опыте сравнительного исследования инфекции, вызванной вегетативной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis* и канамицин-индуцированной dormantной формой, выявлены клиничко-морфологические различия. При визуальном наблюдении до 7 суток после заражения внешних признаков заболевания у животных, зараженных dormantной формой *Y. pseudotuberculosis*, не было выявлено, тогда как у животных, зараженных вегетативными бактериями, отмечались отказ от пищи, снижение двигательной активности, взъерошенность шерсти. На 14–21 суток инфекции (срок наблю-

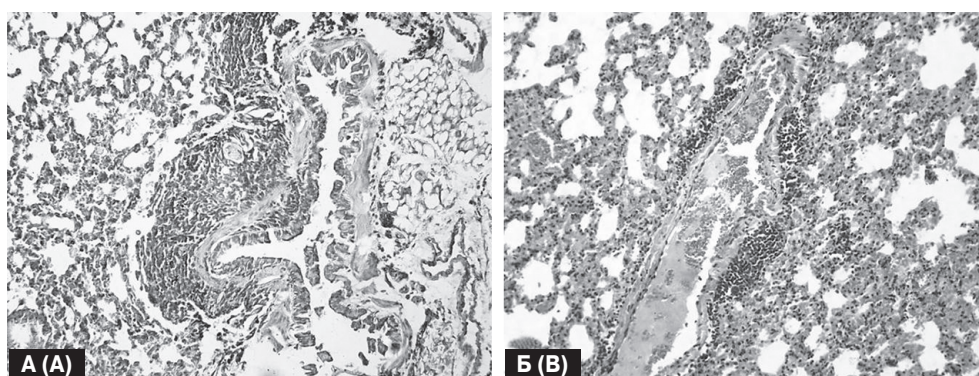


Рисунок 4. Выраженная гиперплазия бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани в легком при экспериментальной инфекции, вызванной dormantной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*

Figure 4. A profound hyperplasia of bronchial-associated lymphoid tissue during experimental infection caused by the dormant *Y. pseudotuberculosis* strain 512

Примечания. А) лимфоидный инфильтрат в стенке бронха, четко отграниченный от перибронхиальной ткани, 14 суток после заражения, $\times 200$; Б) плотный периваскулярный инфильтрат, состоящий из лимфоцитов, 32 суток после заражения, $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) lymphoid infiltrate in the bronchial wall, clearly delimited from the peribronchial tissue, 14 days postinfection, $\times 200$; B) dense perivascular infiltrate, consisting of lymphocytes, 32 days postinfection, $\times 200$. Staining with hematoxylin and eosin.

дения) эти симптомы выявлены у всех мышей, зараженных обеими бактериальными формами *Y. pseudotuberculosis*. Макроскопически у мышей, зараженных вегетативными бактериями, на 7–14 сутки на поверхности селезенки и печени определялись небольшие округлые очажки белесоватого цвета.

В группе животных, зараженных канамицин-индуцированной dormantной формой *Y. pseudotuberculosis*, гистологические изменения в органах были аналогичными таковым в первом опыте при заражении музейным dormantным штаммом 512: в легком наблюдались мощные периваскулярные муфты, состоящие преимущественно из лимфоцитов, и выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани; в селезенке — фолликулярная гиперплазия и выраженная гигантоклеточная реакция.

По сравнению с животными, зараженными канамицин-индуцированной dormantной формой *Y. pseudotuberculosis*, в группе животных, за-

раженных вегетативными бактериями штамма 512, на 7 сутки после заражения гранулематозные изменения в органах носили более острый характер, с наличием реакций гиперчувствительности как замедленного (ГЗТ), так и немедленного (ГНТ) типов. Так, в печени выявлялись полиморфноклеточные периваскулярные инфильтраты (рис. 5А) и единичные рыхлые узелки, состоящие из макрофагов и нейтрофилов. Также встречались крупные очаги с проникновением эффекторных клеток воспаления в окружающую ткань и признаками деструкции клеток (рис. 5Б) — типичные псевдотуберкулезные гранулемы с центральным кариорексисом (по терминологии А.П. Авцына) [4]. В легком обнаружены крупноочаговая бронхопневмония с полиморфноклеточной инфильтрацией и типичными гранулемами (рис. 5В, Г) либо очаги воспаления с рыхлой инфильтрацией полиморфными клетками и эритродиapedезом. В селезенке наблюдалось преобладание лимфо-

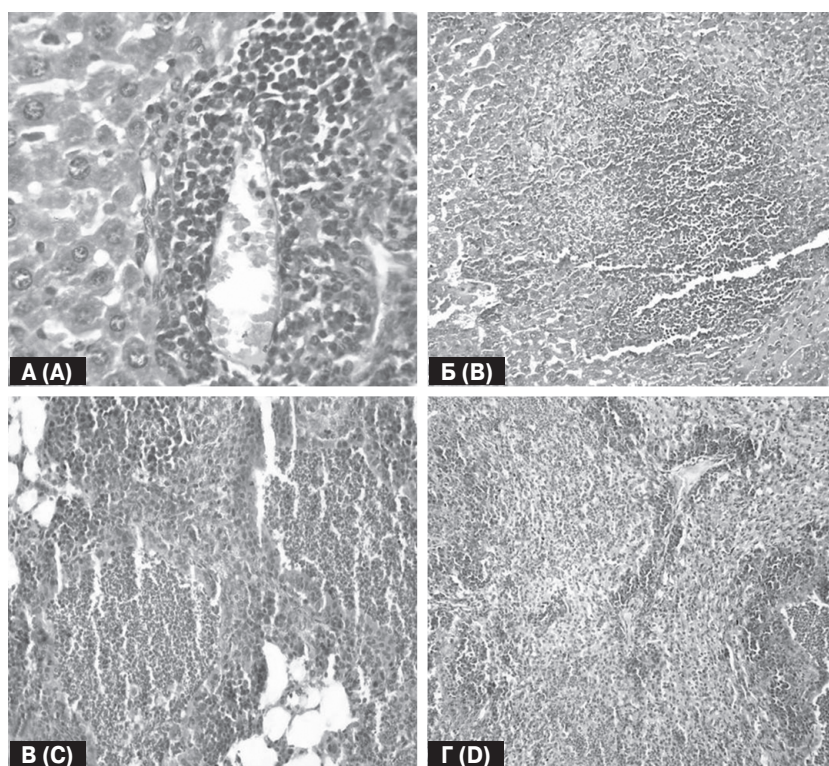


Рисунок 5. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной вегетативными бактериями штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 7 сутки после заражения

Figure 5. Pathohistological changes in experimental infection caused by vegetative bacterial strain 512 *Y. pseudotuberculosis*. 7 days postinfection

Примечания. А) полиморфноклеточный инфильтрат («муфта»), $\times 400$; Б) крупный очаг с деструкцией в центральной зоне и проникновением эффекторных клеток воспаления в окружающую ткань, $\times 200$; В) крупноочаговая бронхопневмония с полиморфноклеточной инфильтрацией, $\times 200$; Г) формирование гранулем с распадом клеток в центральной зоне, $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) polymorphonuclear cell infiltrate ("sleeve"), $\times 400$; B) large focus with destruction in the central zone and the penetration of inflammatory effector cells into the surrounding tissue, $\times 200$; C) large-focal bronchopneumonia with polymorphonuclear cell infiltration, $\times 200$; D) formation of granulomas with cell disintegration in the central zone, $\times 400$. Staining with hematoxylin and eosin.

идных фолликулов небольших размеров и незначительная гигантоклеточная реакция (легкая гипоплазия), что свидетельствовало о патогенном потенциале инфицирующего агента.

Уже на 14 сутки после заражения вегетативными бактериями *Y. pseudotuberculosis* в селезенке обнаружена незначительная гигантоклеточная реакция, а в печени наблюдалось менее выраженное продуктивное воспаление, чем в предыдущий срок, с наличием только реакций ГЗТ в виде мононуклеарных периваскулярных инфильтратов без проникновения клеток в окружающую ткань и компактных узелков небольшого размера, а кое-где встречались мощные периваскулярные инфильтраты в виде муфт. В легком имелась незначительная мононуклеарная периваскулярная инфильтрация, слабая реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани. На 21 сутки после заражения вегетативными бактериями *Y. pseudotuberculosis* сохранялись описанные изменения, варьирующие у разных животных по степени выраженности: в печени (рис. 6А) и в легком (рис. 6Б) от остаточных явлений мелкоочагового воспаления до крупных фолликулоподобных лимфоидных инфильтратов вокруг сосудов.

Обсуждение

Вклад бактерий-персистеров в хронизацию инфекционного процесса может быть связан с тем, что они сохраняются в клетках зараженного организма, в частности в макрофагах и клетках гранулем [11]. Гранулемы возникают при заболеваниях, которые носят хронический, волнообразный характер течения, то есть с пе-

риодами обострений и ремиссий. Однако гранулематозное воспаление может наблюдаться и при острых инфекционных заболеваниях, в том числе при псевдотуберкулезе [4].

Полученные *in vivo* данные свидетельствуют о том, что штаммы *Y. pseudotuberculosis*, находившиеся в dormantном состоянии, вызвали развитие своеобразного гранулематозного воспаления, характеризующего защитную реакцию инфицированного организма (за счет реакций гиперчувствительности замедленного типа), что отражает формирование местного, тканевого иммунитета в органах-мишенях. Выявлены особенности гранулематозного воспаления по сравнению с таковыми при заражении вегетативными бактериями *Y. pseudotuberculosis*: гранулемы были преимущественно мелких размеров, четко отграниченные от окружающей ткани, без деструкции клеток центральной зоны; периваскулярные инфильтраты и васкулиты состояли в основном из лимфоцитов и часто имели фолликулоподобный вид (напоминали фолликулы лимфоидных органов); в легких наблюдалась хорошо выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани, а в селезенке — фолликулярная гиперплазия, указывающая на Т-клеточную защитную реакцию. Эти изменения сохранялись до 32-х суток после заражения (срок наблюдения).

При заражении вегетативными бактериями *Y. pseudotuberculosis* гранулематозное воспаление отличалось большей остротой с наличием реакций не только ГЗТ, но и ГНТ с проникновением клеток воспаления за пределы инфильтратов в окружающую ткань. Это отмечалось только в ранние сроки инфекции (на 7 сутки после за-

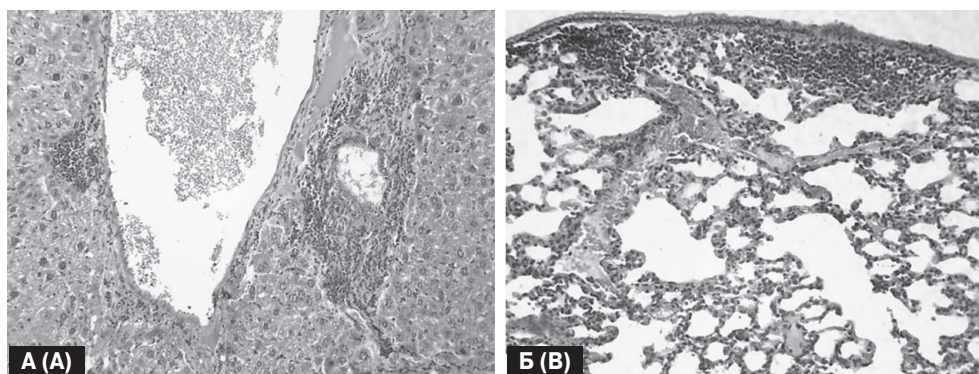


Рисунок 6. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной вегетативными бактериями штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 21 сутки после заражения
 Figure 6. Pathohistological changes in experimental infection caused by vegetative bacterial strain 512 *Y. pseudotuberculosis*. 21 days postinfection

Примечания. А) фолликулоподобные лимфоидные инфильтраты вблизи сосуда в печени, $\times 200$; Б) лимфоидные инфильтраты в легком, $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) follicle-like lymphoid infiltrates near the vessel in the liver, $\times 200$; B) lymphoid infiltrates in the lung, $\times 200$. Staining with hematoxylin and eosin.

ражения), без дальнейшего прогрессирования воспалительно-деструктивных изменений, что характерно для слабовирулентных штаммов *Y. pseudotuberculosis* [4]. Следовательно, для восстановления патогенного потенциала вегетативных бактерий использованного во втором опыте штамма 512 *Y. pseudotuberculosis* необходимы были его повторные пересевы с косога агар на питательную дифференциально-диагностическую среду Серова.

В настоящее время стали обсуждаться вопросы гранулематозного воспаления в его взаимосвязи с персистенцией возбудителей инфекционных болезней. При псевдотуберкулезе гранулематозное воспаление является наиболее типичной тканевой реакцией, что может создавать условия для персистенции возбудителя [2].

Морфология гранул, формирующихся при заражении *Y. pseudotuberculosis*, отражает тяжесть течения инфекционного процесса и выраженность иммунной защиты макроорганизма. Все большее подтверждение находит концепция развития гранулематозного воспаления в связи с инфицированием штаммами *Y. pseudotuberculosis*, имеющими сниженную вирулентность, когда в воспалительных очагах преобладают реакции гиперчувствительности замедленного типа. Благоприятный исход большинства случаев

псевдотуберкулеза у человека позволяет предположить, что еще в острой фазе заболевания под влиянием эндогенных факторов может происходить потеря одного из важных факторов вирулентности *Y. pseudotuberculosis* — цитотоксического некротизирующего фактора (CNFY) — и переход патогена в слабовирулентный *cnf*-мутант, способный к персистенции в местах гранулематозного воспаления [1, 2, 8]. Действительно, в первом эксперименте использованный для заражения животных авирулентный (слабовирулентный) штамм 512 *Y. pseudotuberculosis*, находившийся в дормантном состоянии, потерял способность продуцировать CNFY-токсин и вызвал развитие вышеописанного гранулематозного воспаления.

Таким образом, полученные данные о морфологической характеристике инфекционного процесса, вызванного вышеуказанными слабовирулентными штаммами *Y. pseudotuberculosis*, свидетельствуют о том, что возбудитель псевдотуберкулеза, находясь в дормантном состоянии, инициирует развитие иммуноморфологических изменений защитного характера в виде гранулематозного воспаления с выраженными реакциями гиперчувствительности замедленного типа и может способствовать формированию персистентной инфекции.

Список литературы/References

1. Персиянова Е.В., Адгамов Р.Р., Сурин А.К., Псарева Е.К., Ермолаева С.А. Цитотоксический некротизирующий фактор *Yersinia pseudotuberculosis*, возбудителя дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки // Бюллетень СО РАМН. 2013. Т. 33, № 2. С. 16–20. [Persyanova E.V., Adgamon R.R., Surin A.K., Psareva E.K., Ermolaeva S.A. Cytotoxic necrotizing factor of *Yersinia pseudotuberculosis*, pathogen of Far Eastern scarlet-like fever. *Biulleten' SO RAMN = Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2013, vol. 33, no. 2, pp. 16–20. (In Russ.)]
2. Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Дробот Е.И., Ляпун И.Н. Гранулематозное воспаление как фактор, способствующий персистенции патогена при инфекции, вызванной *Yersinia pseudotuberculosis* // Клиническая и экспериментальная морфология. 2020. Т. 1, № 9. С. 5–10. [Somova L.M., Andryukov B.G., Drobot E.I., Lyapun I.N. Granulomatous inflammation as a factor contributing to the pathogen persistence during infection caused by *Yersinia pseudotuberculosis*. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya = Clinical and Experimental Morphology*, 2020, vol. 1, no. 9, pp. 5–10. (In Russ.)] doi: 10.31088/CEM2020.9.1.5-10
3. Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Тимченко Н.Ф., Псарева Е.К. Псевдотуберкулез как персистентная инфекция: этиопатогенетические предпосылки // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2019. № 2. С. 110–119. [Somova L.M., Andryukov B.G., Timchenko N.F., Psareva E.K. Pseudotuberculosis as a persistent infection: etiopathogenetic prerequisites. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2019, no. 2, pp. 110–119. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-2019-2-110-119
4. Сомова Л.М., Антоненко Ф.Ф. Псевдотуберкулез (клинико-морфологические аспекты). М.: Наука, 2019. 328 с. [Somova L.M., Antonenko F.F. Pseudotuberculosis (clinical and morphological aspects). *Moscow: Science*, 2019. 328 p. (In Russ.)]
5. Сомова Л.М., Тимченко Н.Ф., Ляпун И.Н., Матосова Е.В., Бынина М.П. Ультраструктурные изменения бактерий статической культуры *Yersinia pseudotuberculosis* при длительном хранении в условиях низкой температуры // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. Т. 170, № 8. С. 192–195. [Somova L.M., Timchenko N.F., Lyapun I.N., Matosova E.V., Bynina M.P. Ultrastructural changes of bacteria in static cultures of *Yersinia pseudotuberculosis* under long storage at the conditions of low temperature. *Biulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2020, vol. 170, no. 8, pp. 192–195. (In Russ.)]
6. Ayrapetyan M., Williams T.C., Baxter R., Oliver J.D. Viable but nonculturable and persister cells coexist stochastically and are induced by human serum. *Infect. Immunol.*, 2015, vol. 83, no. 11, pp. 4194–4203. doi: 10.1128/IAI.00404-15
7. Grant S.S., Hung D.T. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance and the oxidative stress response. *Virulence*, 2013, vol. 4, no. 4, pp. 273–283. doi: 10.4161/viru.23987
8. Heine W., Beckstette M., Heroven K., Thiemann S., Heise U., Niss A.M., Pisano F., Strowig T., Dersch P. Loss of CNFY toxin-induced inflammation drives *Yersinia pseudotuberculosis* into persistence. *PLoS Pathog.*, 2018, vol. 14, no. 2: e1006858. doi: 10.1371/journal.ppat.1006858

9. Jayaraman R. Bacterial persistence: some new insights into an old phenomenon. *J. Biosci.*, 2008, vol. 33, no. 5, pp. 795–805. doi: 10.1007/s12038-008-0099-3
10. Kim J.-S., Chowdhury N., Wood T.K. Viable but non-culturable cells are persister cells. *Environ. Microbiol.*, 2018, vol. 20, no. 6, pp. 2038–2048. doi: 10.1111/1462-2920.14075
11. Lewis K. Persister cells: molecular mechanisms related to antibiotic tolerance. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2012, vol. 211, pp. 121–133. doi: 10.1007/978-3-642-28951-4-8

Авторы:

Сомова Л.М., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Андрюков Б.Г., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Ляпун И.Н., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Дробот Е.И., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Рязанова О.С., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Матосова Е.В., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Бынина М.П., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Тимченко Н.Ф., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия.

Authors:

Somova L.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Head Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Andryukov B.G., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Lyapun I.N., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Drobot E.I., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Ryazanova O.S., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Matosova E.V., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Bynina M.P., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Timchenko N.F., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation.

PERFORMANCE OF GeneXpert MTB/RIF IN THE DIAGNOSIS OF EXTRAPULMONARY TUBERCULOSIS IN MOROCCO

A. Aainouss^{a,b}, G. Momen^{a,b}, A. Belghiti^a, K. Bennani^c, A. Lamaammal^b, F. Chetioui^b, M. Messaoudi^b, M. Blaghen^{a,d}, J. Mouslim^a, M. Khyatti^b, M.D. El Messaoudi^b

^a Hassan II University, Casablanca, Morocco

^b Morocco Pasteur Institute, Casablanca, Morocco

^c Ministry of Health, Rabat, Morocco

^d University Couaib Doukkali, El Jadida, Morocco

Abstract. Tuberculosis (TB), a chronic bacterial disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*, commonly affects the lung but can also affect other parts of the body (extrapulmonary tuberculosis, EPT). A rapid diagnosis is essential to initiate a specific and effective treatment. Although mycobacterial culture remains the gold standard for EPT diagnosis, molecular tools are attracting increasing interest. GeneXpert MTB/RIF, a rapid automated diagnostic test, allows the detection of *Mycobacterium tuberculosis* as well as mutations in the hot-spot region of the *rpoB* gene associated with Rifampicin resistance. The present study was performed to evaluate the performance of the GeneXpert MTB/RIF test for the diagnosis of EPT compared to the standard method. This prospective study was conducted on 304 clinical samples collected from 192 patients attending the Laboratory of Mycobacteria and Tuberculosis of Pasteur Institute of Morocco, between 2016 and 2017. Out of the 304 samples, 113 were pleural fluids decontaminated using the Petroff method and 191 were biopsies (78 lymph nodes and 113 pleural biopsies) decontaminated using the Löwenstein method. *Mycobacterium tuberculosis* detection and identification were performed on all samples using smear microscopy, Löwenstein–Jensen medium culture and the GeneXpert MTB/RIF test. Our results showed that 54.5 (103/189) were men and 45.5% (86/189) were women. The age of patients ranged from 2–78 years and the majority of patients was in the age group 25–45 years. Extrapulmonary samples were derived from lymph nodes, pleural fluids and pleural tissues, with a percentage of 25.66, 37.17 and 37.17%, respectively. Interestingly, the sensitivity of the GeneXpert was 51.4 for all samples and 83.3% for lymph nodes. In conclusion, the present study revealed that the performance of the GeneXpert test depends highly on the type of sample, with a high sensitivity observed for lymph nodes. Additionally, we clearly showed that the GeneXpert MTB/RIF test presents limitations in the diagnosis of pleural TB. Thus, we recommend the coupled use of the GeneXpert MTB/RIF and the conventional techniques for EPT diagnosis.

Key words: extrapulmonary tuberculosis, paucibacillary tuberculosis, GeneXpert, diagnosis, sensitivity.

Адрес для переписки:

Ашраф Аайнус
27182, Марокко, г. Касабланка, Нуасёр, ул. Тарика ибн Зияда, 19,
Университет Хасана II.
Тел.: +212 611-42-48-19.
E-mail: achraf.aainouss@gmail.com

Contacts:

Achraf Aainouss
27182, Maroc, Casablanca, Nouaceur, rue Tarik Ibn Ziad, 19,
Hassan II University.
Phone: +212 611-42-48-19.
E-mail: achraf.aainouss@gmail.com

Для цитирования:

Аайнус А., Момен Г., Белгити А., Беннани К., Ламаамал А., Шетиуи Ф., Мессауди М., Благен М., Муслим Д., Кьятти М., Эль Мессауди М.Д. Эффективность GeneXpert MTB/RIF в диагностике внелегочного туберкулеза в Марокко // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 78–84. doi: 10.15789/2220-7619-POG-1695

Citation:

Aainouss A., Momen G., Belghiti A., Bennani K., Lamaammal A., Chetioui F., Messaoudi M., Blaghen M., Mouslim J., Khyatti M., El Messaoudi M.D. Performance of GeneXpert MTB/RIF in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis in Morocco // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 78–84. doi: 10.15789/2220-7619-POG-1695

ЭФФЕКТИВНОСТЬ GeneXpert MTB/RIF В ДИАГНОСТИКЕ ВНЕЛЕГОЧНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА В МАРОККО

Айнуус А.^{1,2}, Момен Г.^{1,2}, Белгити А.¹, Беннани К.³, Ламаамал А.², Шетиуи Ф.², Мессауди М.², Благен М.^{1,4}, Муслим Д.¹, Кьятти М.², Эль Мессауди М.Д.²

¹ Университет Хасана II, г. Касабланка, Марокко

² Институт Пастера Марокко, г. Касабланка, Марокко

³ Министерство здравоохранения, г. Рабат, Марокко

⁴ Университет Шуаиба Дукали, г. Эль-Джадида, Марокко

Резюме. Туберкулез (ТБ), хроническое бактериальное заболевание, вызываемое *Mycobacterium tuberculosis*, обычно поражает легкие, но также может затрагивать и другие анатомические области (внелегочный туберкулез, ВЛТ). Для начала специфического эффективного лечения необходимо проведение быстрой диагностики. Хотя культивирование микобактерий остается золотым стандартом для диагностики ВЛТ, все больший интерес вызывают молекулярные методы. GeneXpert MTB/RIF — быстрый автоматизированный диагностический тест, который позволяет обнаруживать *M. tuberculosis*, а также мутации в «горячем участке» гена *rpoB*, связанные с устойчивостью к рифампицину. Настоящее исследование было выполнено для оценки эффективности теста GeneXpert MTB/RIF для диагностики внелегочного туберкулеза в сравнении со стандартным методом. Данное проспективное исследование было проведено на 304 клинических образцах, собранных у 192 пациентов, посещавших лабораторию микобактерий и туберкулеза Института Пастера в Марокко в период с 2016 по 2017 гг. Из 304 образцов 113 составляла плевральная жидкость, очищенная с использованием метода Петрова, а 191 образец биопсии (78 лимфатических узлов и 113 биопсий плевры), деконтаминированные с использованием метода Левейнштейна. Обнаружение и идентификацию *Mycobacterium tuberculosis* проводили для всех образцов с использованием микроскопии мазка, культивирования на среде Левенштейна–Йенсена и теста GeneXpert MTB/RIF. Наши результаты показали, что 54,5% (103/189) составляли мужчины и 45,5% (86/189) — женщины. Возраст пациентов составлял от 2 до 78 лет, большинство пациентов были в возрастной группе от 25 до 45 лет. Внелегочные образцы были взяты из лимфатических узлов, плевральной жидкости и плевральных тканей с процентным соотношением 25,66, 37,17 и 37,17% соответственно. Интересно, что чувствительность GeneXpert составила 51,4% для всех образцов и 83,3% для лимфатических узлов. Таким образом, настоящее исследование показало, что эффективность теста GeneXpert значительно зависит от типа образца, при этом высокая чувствительность наблюдается для лимфатических узлов. Кроме того, мы показали, что тест GeneXpert MTB/RIF имеет ограничения в диагностике плеврального туберкулеза. Мы рекомендуем совместное использование GeneXpert MTB/RIF и традиционных методов для диагностики внелегочного туберкулеза.

Ключевые слова: внелегочный туберкулез, олигобациллярный туберкулез, GeneXpert, диагностика, чувствительность.

Introduction

Tuberculosis (TB) remains a serious global health problem and is one of the leading causes of death worldwide [21]. In Morocco, 30,897 TB cases were declared in 2017, with an estimated prevalence of 88 cases per 100,000 inhabitants [10]. The most common site of infection with *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) worldwide is the lung, although dissemination can occur to any part of the body, resulting in extrapulmonary tuberculosis (EPT) [18]. Worldwide, EPT accounted for 15% of the 7 million TB incident cases notified in 2018, with proportions ranging from 8% in the World Organization Health (WHO) Western Pacific Region to 24% in the Eastern Mediterranean Region (EMR) [25]. Among the EMR countries, Tunisia has the highest proportion of EPT cases (60%) [1]. In Morocco, EPT accounts for 46% of all TB cases, with lymph node EPT being the most common localization followed by pleural EPT [1, 7, 10]. Due to the paucibacillary nature of the non-respiratory specimens, diagnosis of EPT remains challenging. Therefore, molecular

tools using nucleic acid amplification methods has been recommended by the WHO for rapid diagnosis of TB infection [9, 22].

Among these molecular technologies, GeneXpert MTB/RIF, a rapid technology developed by Cepheid (Sunnyvale, CA, USA) is the only fully automated cartridge based real time PCR, implementing molecular beacon technology which can detect MTB complex DNA and Rifampicin (RIF) resistance in less than two hours [17]. Although the use of GeneXpert MTB/RIF is not recommended for the diagnosis of TB with all non-respiratory specimens, this test have been used by WHO for the diagnosis of EPT since 2013 [24]. GeneXpert MTB/RIF has been validated in several studies using an excessively small sample size of EPT, resulting in a large different range of sensitivities and specificities. This difference may also be due to the studied patient population, processing methods as well as the composite reference standard (CRS) [17].

In this field, the present study was designed to evaluate the performance of the Xpert MTB/RIF assay for the detection of *M. tuberculosis* com-

plex (MTBC) and RIF resistance in lymph node, pleural fluids and pleural biopsy using a large simple size. We also compared the diagnostic performance of GeneXpert MTB/RIF with that of conventional culture, CRS and patient's clinical findings.

Materials and methods

This study was conducted in the laboratory of mycobacteria and tuberculosis of Pasteur Institute of Morocco. The clinical samples were collected from 192 patients with suspicion of EPT based on clinical criteria and EPT positive patients in post-therapeutic follow-up. The collected specimens consisted of 191 biopsies (pleural biopsy [n = 113], lymph nodes [n = 78]) and 113 pleural fluids. For suspected pleural TB patients, two specimens were collected (biopsy and pleural fluid).

Laboratory processing of specimens. Decontamination and concentration of clinical specimens is an important and critical step in the isolation of mycobacteria. The modified Petroff method was used for the decontamination of pleural fluids. Briefly, the sample was homogenized for 15 min in a shaker using an equal volume of NaOH (4%). After centrifugation at 3000g for 20 min, the deposit was neutralized with 20 mL of sterile distilled water. After another centrifugation, the sediment was inoculated in solid media (Löwenstein–Jensen) and the smear and Xpert MTB/RIF were performed [23].

Lymph nodes and pleural biopsies were decontaminated using the Löwenstein method. The samples were cut into small pieces with a sterile scalpel or scissors and homogenized in a sterile porcelain mortar using 5 mL of sterile distilled water. Four mL of sulfuric acid H₂SO₄ 4% were then added and incubated at room temperature for 10 minutes. The sample was neutralized with 3.5 mL of NaOH (6%) and the solution was then put in a centrifuge tube with a screw cap after adding 20 mL of sterile distilled water. After centrifugation at 3000g for 20 min, the sediment was inoculated in LJ, the smear and GeneXpert were made.

Smears microscopy. Smears microscopy was used to detect Acid-Fast Bacilli (AFB) by the conventional Ziehl–Neelsen method. A semi quantitative grading system was used to report the number of AFB observed in the stained smear of each sample. When no AFB was seen after examining 300 fields, the smear was annotated “no AFB seen”.

Solid media (Löwenstein–Jensen). To isolate and semi quantify growth of Mycobacteria, for each specimen two Löwenstein–Jensen (LJ) medium were inoculated with 0.2 mL of the decontaminated sediment and incubated at 37°C for 60 days. The isolates were then identified using colony morphology, pigmentation, niacin test and nitrate reductase tests.

GeneXpert MTB/RIF assay. The GeneXpert test was performed as previously described [23]. The tech-

nique covers an area of 81 base pairs of the *rpoB* gene, between the codon 507 and 533, which encodes for the β subunit of RNA polymerase. Five molecular beacon type genetic probes were used with a different fluorophore. Briefly, the GeneXpert reagent was added in a 2:1 ratio to the decontaminated and concentrated specimen. The sample container was mixed twice during 15 min incubation period at room temperature. Finally, 2 mL of the treated sample was transferred into the GeneXpert cartridge, loaded into the GeneXpert device and the automatically generated results were read after 2 hours.

Statistical analysis. The results were analyzed using the Excel software 2016 and VassarStats (<http://vassarstats.net/clin1.html>). Sensitivity and specificity of GeneXpert MTB/RIF regarding type of sample (pleural fluid, pleural tissue for suspect pleural TB, and lymph nodes for suspect lymphadenitis TB) were calculated. GeneXpert MTB/RIF diagnostic accuracy was calculated in comparison to LJ culture, which is the reference standard for EPTB. Therefore, in this study we evaluate the use of GeneXpert MTB/RIF using a CRS composed of smear microscopy, culture (LJ) and clinical findings. Any patient that was positive for any one component of the CRS was considered TB cases. Contaminated cultures and indeterminate results (Error, Invalid, No result) were excluded and not retested.

The gold standard for the diagnosis of TB pleuritic remains the detection of MTB in pleural fluid and/or pleural biopsy specimens, either by microscopy and/or culture. We used two types of sample for the diagnosis of pleural TB, if culture from pleural tissue or fluid was positive for MTB, the patient was considered positive for TB. The GeneXpert MTB/RIF result should be considered as bacteriological confirmation of TB if the sample was collected from a patient who was not recently receiving treatment with anti-TB drugs [6].

Results

Between 2016 and 2017, 192 patients were included and a total of 304 extrapulmonary samples were processed for GeneXpert. All samples were also processed for smears microscopy and culture in solid media. Among the 192 studied patients, 78 (40.62%) were patients with lymph node TB and the remaining 114 (59.37%) were patients with pleural TB. The isolates were then identified using colony morphology, pigmentation, niacin test and nitrate reductase tests, which confirmed that all isolates are *M. tuberculosis*.

The demographic and clinical characteristics of 192 patients enrolled in this study are reported in table 1 showing that 103 were men and 86 were women (sex ratio: 1.20). The mean age of patients was 28 years with extreme ages of 2 and 78 years old. Interestingly, our results showed that 67 (35.4%) patients were young adults (15–25 years old) and

39.15% (74/189) were between 25 and 45 years old. Extrapulmonary samples were collected from lymph nodes, pleural fluids, and pleural tissues, with a percentage of 25.66%, 37.17% and 37.17%, respectively. For 3/304 (0,9%) samples the results of GeneXpert were inconclusive, and these samples were excluded from further analysis. Overall, 50 out of the 301 studied specimens (16.61%) were positive for MTBc by culture and 35 (11.63%) by the GeneXpert assay. Using the GeneXpert assay, the highest positivity rate was observed with lymph node specimens (33.33%), while the highest positivity rate was observed with pleural tissues (25.66%) by culture (Table 1). Our data further show that out of the 75 lymph nodes, 5 (6.6%) were AFB positive by conventional smear microscopy and 11 (14.6%) were positive for MTB by culture. Of 75 lymph nodes tested by GeneXpert, 25 (33.3%) were positive for TB (Fig.).

Among 113 pleural tissues studied, 3 (2.6%) were smears microscopy positive, 10 (8.8%) were positive for mycobacteria by culture and 4 (3.5%) were GeneXpert test positive (Fig.).

Of 113 pleural fluids tested, conventional culture showed the highest positivity rate (25.6%), followed by the GeneXpert assay, which was found positive in 6 pleural fluid specimens (5.3%), while only 3 pleural fluid specimens (2.6%) were positive by conventional smear (Fig.).

The GeneXpert test also provides a semi-quantitative report of the number of DNA copies detected in the sample. As expected it was “very low” or “low”, in the large majority (97.14%) of the samples that scored positive.

Based on the two reference standard (CRS and culture), TB diagnosis was confirmed in 68 patients (36%), 30 patients (40%) had a lymphadenitis TB and 38 (33.3%) had a pleural TB.

The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values (PPV and NPV respectively) of the GeneXpert MTB/RIF test and smear microscopy are detailed in Table 3.

Comparison with the culture method. The GeneXpert assay showed the sensitivity and the specificity of 18% [95% CI, 9–32%] and 89.6% [95% CI, 85–93%], respectively. The sensitivity of smear examination compared to culture was 16% [95% CI, 7–29%] and the specificity was 98.8% [95% CI, 96–99%]. As presented in Table 2, our data show that the performance of the GeneXpert test varies according to the nature of the sample. In fact, the sensitivity of the GeneXpert test was in decreasing order of 60% [95% CI, 27–86%] for lymph nodes, 10.3% [95% CI, 2–28%] for tissue pleural and 0% [95% CI, 0–34%] for pleural fluids.

Comparison with the Composite Reference Standard (CRS). The comparison of the sensitivity of the GeneXpert and the smear microscopy shows an overall sensitivity of 51.4% [95% CI, 39–63%] and 16.18% [95% CI, 8–27%], respectively, when com-

Table 1. Demographic and clinical characteristics of patients included in the study and results of the technics

Characteristics	n	%
Age, years		
2–15	27	14.3
15–25	67	35.4
25–45	74	39.2
45–60	12	6.3
> 60	9	4.8
Gender		
Male	103	54.5
Female	86	45.5
Specimen type		
Lymph node	75	24.9
Pleural tissue	113	37.5
Pleural fluid	113	37.5
Smear result		
Positive	11	3.7
Negative	290	96.3
Culture result		
Positive	50	16.6
Negative	251	83.4
GeneXpert result		
Positive	35	11.6
Negative	266	88.4

pared to the CRS. The performance of the GeneXpert test depended on the type of sample, the test sensitivity rate was highest for lymph nodes (83%) [95% CI, 64–93%], followed by pleural biopsy (15.8%) [95% CI, 6–32%] and pleural fluid (10.5%) [95% CI, 3–25%].

Discussion

Because of the paucibacillary nature of the non-respiratory specimens, diagnosis of EPT remains challenging and associated with low sensitivity to conventional methods; smears microscopy and culture.

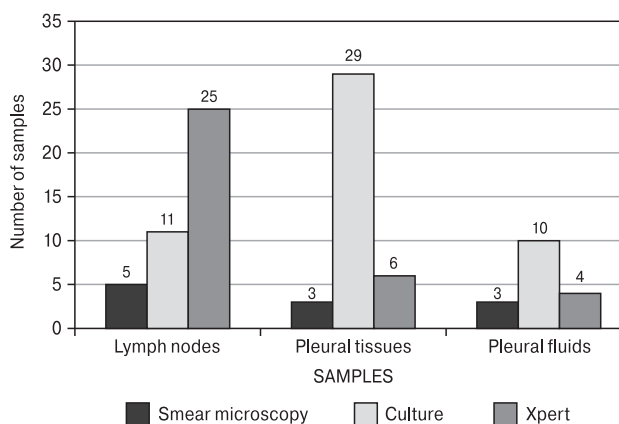


Figure. Showing distribution of samples according to the positivity of smears microscopy, culture and Xpert test

Table 2. Performance of the GeneXpert MTB/RIF test with respect to different sample types compared to culture and CRS

Specimen type	Culture as a reference standard				CRS as a reference standard			
	Sensitivity % (95% CI)	Specificity % (95% CI)	PPV % (95% CI)	NPV % (95% CI)	Sensitivity % (95% CI)	Specificity % (95% CI)	PPV % (95% CI)	NPV % (95% CI)
Lymph node	60 (27–86)	70.3 (57–80)	24 (10–45)	91.8 (79–97)	83 (64–93)	100 (90–100)	100 (83–100)	90 (77–96)
Pleural tissue	10.3 (2–28)	96.4 (89–99)	50 (13–86)	75.7 (66–83)	15.8 (6–32)	100 (94–100)	100 (52–100)	70 (60–78)
Pleural fluid	0 (0–34)	96.1 (89–98)	0 (0–60)	90 (83–95)	10.5 (3–25)	100 (93–100)	100 (39.5–100)	68.8 (59–77)

Table 3. Performance of GeneXpert MTB/RIF and smear microscopy compared to culture and CRS

Technics	Culture as a reference standard				CRS as a reference standard			
	Sensitivity %	Specificity %	PPV %	NPV %	Sensitivity %	Specificity %	PPV %	NPV %
	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)
Smear microscopy	16 (7–29)	98.8 (96–99)	72.7 (39–92)	85.5 (80–89)	16.1 (8–27)	100 (96–100)	100 (67–100)	67.9 (60–74)
GeneXpert MTB/RIF	18 (9–32)	89.6 (85–92)	25.7 (13–43)	84.5 (79–88)	51.4 (39–63)	100 (96–100)	100 (87–100)	78.5 (71–84)

Table 4. Performance of GeneXpert MTB/RIF and smear microscopy compared to culture and CRS

Technics	Culture as a reference standard				CRS as a reference standard			
	Sensitivity %	Specificity %	PPV %	NPV %	Sensitivity %	Specificity %	PPV %	NPV %
	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)
Smear microscopy	16 (7–29)	98.8 (96–99)	72.7 (39–92)	85.5 (80–89)	16.1 (8–27)	100 (96–100)	100 (67–100)	67.9 (60–74)

Negative results in smear microscopy and/or culture cannot therefore exclude the presence of TB [16], while positive smear examination cannot distinguish between non-tuberculosis mycobacteria and MTB. In addition, culture which is the gold standard for TB diagnosis, takes 2–8 weeks to get the results, impacting therefore negatively the time to treatment decision [11]. Therefore, molecular techniques play an important role in rapid diagnosis of some EPT forms, although the sensitivity is poor for some of them [8]. GeneXpert is one such useful and rapid tool for the diagnosis of EPT and detection of RIF resistance.

In our study, 14.6% (11/76) lymph node biopsies were found positive for TB by culture. According to previous studies, TB positivity rates of lymph node biopsies by culture varied from 10.3% to 45%. A positivity rate of 10.3% was reported in a study conducted in Morocco [1], 10.8% in Tunisia [13] and 45% in South Africa [26]. Furthermore, our results on TB detection by culture from pleural biopsies and pleural fluids show a positivity rate of 25.6% and 8.8%, respectively. This is quite similar to what was found in a study conducted by Du et al. [3] who reported a value of 31.7% for pleural biopsies and 17.4% for pleural fluids.

Our findings on the performance of the GeneXpert test compared to CRS (51.4%) correlate with study conducted by Moure et al., who reported a value of 58% [15] and study conducted by Rakotoarivelo et al. in Antananarivo, the capital city of Madagascar, who reported a value of 65% [20]. When GeneXpert

MTB/RIF was compared to culture for the detection of resistance to RIF, we found a much lower sensitivity (18%) than other studies that report a high sensitivity ranging from 79% to 82% [20, 22, 27].

Our data also showed a higher sensitivity of the GeneXpert MTB/RIF assay in the diagnosis of lymphadenitis TB from lymph nodes (83%). These results are consistent with those of previous studies conducted in Tunisia by Ghariani et al. [5] who reported a value of 87.5%.

In the present study, the lowest GeneXpert sensitivity was observed for the diagnosis of pleural TB, which was quite similar to the study conducted in Spain by Porcel et al. [19], reporting a value of 15% and the study conducted in South Africa by Friedrich et al. [4], who reported a value of 25%. This low sensitivity of GeneXpert for the diagnosis of pleural TB, could be due to a very low number of bacteria or the presence of an inhibitory substance in the sample, which may have inhibited the amplification of MTB without any effect on the internal control of PCR [2].

Previous studies conducted on the performance of GeneXpert MTB/RIF showed a variable sensitivity of the test [12]. This difference may be explained by various factors including the heterogeneity of the studied populations, the type of EPT, the quality and nature of samples and the gold standard used in the study [12].

Among negative culture specimens, 10.35% (26/251) were found to be positive for GeneXpert MTB/RIF.

A similar finding was observed by Mechal et al. who reported that 10.6% of positive cases in GeneXpert MTB/RIF were negative by culture [14]. This could be due to the paucibacillary nature of extrapulmonary clinical specimens and/or the severe regime of decontamination of clinical samples decreasing the viability of mycobacterial strains.

In the present study, culture in solid media showed a moderate sensitivity of 47% for ETB. This could be explained by the fact that the decontamination step may have resulted in lowering the bacillary load and consequently the reduction of test sensitivity [22].

In conclusion, our study clearly revealed that the high sensitivity and specificity of GeneXpert, cou-

pled with its simplicity and speed, make this technique the most useful tool for a rapid diagnosis of lymph node TB. Additionally, we found that use of the GeneXpert assay presents limitations in the diagnosis of pleural TB. Therefore, we recommend the coupled use of GeneXpert MTB/RIF and conventional technique for EPT diagnosis.

Acknowledgements

We would like to thank all the technicians of Mycobacteria and Tuberculosis Laboratory of Pasteur Institute in Casablanca and Dr. Bennani Kenza for her contribution to the achievement of this study.

References

- Bennani K., Khattabi A., Akrim M., Mahtar M., Benmansour N., Essakalli Hossyni L., Karkouri M., Cherradi N., El Messaoudi M.D., Lahlou O., Cherkaoui I., Khader Y., Maaroufi A., Ottmani S.E. Evaluation of the yield of histopathology in the diagnosis of lymph node tuberculosis in Morocco, 2017. *JMIR Public Health Surveill.*, 2019, vol. 5, no. 4: e14252. doi: 10.2196/14252
- Christopher D.J., Schumacher S.G., Michael J.S., Luo R., Balamugesh T., Duraikannan P., Pollock N.R., Pai M., Denking C.M. Performance of Xpert MTB/RIF on pleural tissue for the diagnosis of pleural tuberculosis. *Eur. Respir. J.*, 2013, vol. 42, no. 5, pp. 1427–1429. doi: 10.1183/09031936.00103213
- Du J., Huang Z., Luo Q., Xiong G., Xu X., Li W., Liu X., Li J. Rapid diagnosis of pleural tuberculosis by Xpert MTB/RIF assay using pleural biopsy and pleural fluid specimens. *J. Res. Med. Sci.*, 2015, vol. 20, no. 1, pp. 26–31.
- Friedrich S.O., von Groote-Bidlingmaier F., Diacon A.H. Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pleural tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.*, 2011, vol. 49, no. 12, pp. 4341–4342. doi: 10.1128/JCM.05454-11
- Ghariani A., Jaouadi T., Smaoui S., Mehiri E., Marouane C., Kammoun S., Essalah L., Driss M., Messadi F., Slim-Saidi L. Diagnosis of lymph node tuberculosis using the GeneXpert MTB/RIF in Tunisia. *Int. J. Mycobacteriol.*, 2015, vol. 4, no. 4, pp. 270–275. doi: 10.1016/j.ijmyco.2015.05.011
- GLI. GLI model TB diagnostic algorithms. 2018. 37p. URL: http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/gli_algorithm.pdf
- Hamzaoui G., Amro L., Sajjai H., Serhane H., Moumen N., Ennezari A., Yazidi A.A. Tuberculose ganglionnaire: aspects épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques, à propos de 357 cas. *Pan Afr. Med. J.*, 2014, vol. 19: 157. doi: 10.11604/pamj.2014.19.157.4916
- Ketata W., Rekek W.K., Ayadi H., Kammoun S. Les tuberculoses extrapulmonaires. *Rev. Pneumol. Clin.*, 2015, vol. 71, no. 2–3, pp. 83–92. doi: 10.1016/j.pneumo.2014.04.001
- Lawn S.D., Zumla A.I. Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis using the Xpert® MTB/RIF assay. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 2012, vol. 10, no. 6, pp. 631–635. doi: 10.1586/eri.12.43
- Le Ministre de la santé du Maroc. Ensemble pour un Maroc sans tuberculose, 2018. URL: <https://www.sante.gov.ma/Pages/Communiqués.aspx?IDCom=277>
- Lu Y., Zhu Y., Shen N., Tian L., Sun Z. Evaluating the diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay on bronchoalveolar lavage fluid: a retrospective study. *Int. J. Infect. Dis.*, 2018, vol. 71, pp. 14–19. doi: 10.1016/j.ijid.2018.01.030
- Marouane C., Smaoui S., Kammoun S., Slim L., Messadi-Akrouf F. Evaluation of molecular detection of extrapulmonary tuberculosis and resistance to rifampicin with GeneXpert® MTB/RIF. *Med. Mal. Infect.*, 2016, vol. 46, no. 1, pp. 20–24. doi: 10.1016/j.medmal.2015.10.012
- Marrakchi C., Maâloul I., Lahiani D., Hammami B., Boudawara T., Zribi M., Ben Jemaâ M. Diagnostic de la tuberculose ganglionnaire périphérique en Tunisie. *Méd. Mal. Infect.*, 2010, vol. 40, no. 2, pp. 119–122. doi: 10.1016/j.medmal.2009.10.014
- Mechal Y., Benaissa E., El Mrimar N., Benlahlou Y., Bssaibis F., Zegmout A., Chadli M., Malik Y.S., Touil N., Abid A., Maleb A., Elouennass M. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF System performances in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *BMC Infect. Dis.*, 2019, vol. 19, no. 1: 1069. doi: 10.1186/s12879-019-4687-7
- Moure R., Martin R., Alcaide F. Effectiveness of an integrated real-time PCR method for detection of the Mycobacterium tuberculosis complex in smear-negative extrapulmonary samples in an area of low tuberculosis prevalence. *J. Clin. Microbiol.*, 2012, vol. 50, no. 2, pp. 513–515. doi: 10.1128/JCM.06467-11
- Naveen P., Nirmal C.K., Balbir M., Kuldip K. Role of geneXpert MTB/RIF in diagnosis of extrapulmonary tuberculosis at Government Medical College, Amritsar. *Int. J. Curr. Res. Med. Sci.*, 2018, vol. 4, no. 3, pp. 134–141. doi: 10.22192/ijcrms.2018.04.03.017
- Nicol M.P., Whitelaw A., Wendy S. Using Xpert MTB/RIF. *Curr. Respir. Med. Rev.*, 2013, vol. 9, no. 3, pp. 187–192. doi: 10.2174/1573398X113099990015
- Peirse M., Houston A. Extrapulmonary tuberculosis. *Medicine*, 2017, vol. 45, no. 12, pp. 747–752. doi: 10.1016/j.mpmed.2017.09.008
- Porcel J.M., Palma R., Valdés L., Bielsa S., San-José E., Esquerda A. Xpert® MTB/RIF in pleural fluid for the diagnosis of tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2013, vol. 17, no. 9, pp. 1217–1219. doi: 10.5588/ijtld.13.0178
- Rakotoarivelo R., Ambrosioni J., Rasolofo V., Raberahona M., Rakotosamimanana N., Andrianasolo R., Ramanampamonjy R., Tiaray M., Razafimahefa J., Rakotoson J., Randria M., Bonnet F., Calmy A.; MadaXpert Study Group. Evaluation of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of smear-negative pulmonary and extrapulmonary tuberculosis in Madagascar. *Int. J. Infect. Dis.*, 2018, vol. 69, pp. 20–25. doi: 10.1016/j.ijid.2018.01.017

21. Sharma B. Polyfunctional T cells as biomarkers in diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Respir. Med.*, 2017, vol. 5, no. 1, 2 p.
22. Tortoli E., Russo C., Piersimoni C., Mazzola E., Dal Monte P., Pascarella M., Borroni E., Mondo A., Piana F., Scarpato C., Coltella L., Lombardi G., Cirillo D.M. Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Eur. Respir. J.*, 2012, vol. 40, no. 2, pp. 442–447. doi: 10.1183/09031936.00176311
23. Tripathi K., Tripathi P.C., Nema S., Shrivastava A.K., Dwiwedi K., Dhanvijay A.K. Modified Petroff's Method: an excellent simplified decontamination technique in comparison with Petroff's method, *IJRSTAT*, 2014, vol. 10, no. 3, pp. 461–464.
24. WHO. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Geneva: WHO, 2013. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25473701>
25. WHO. Global tuberculosis report, 2019. Geneva: WHO, 2019, pp. 88–92.
26. Wright C.A., van der Burg M., Geiger D., Noordzij J.G., Burgess S.M., Marais B.J. Diagnosing mycobacterial lymphadenitis in children using fine needle aspiration biopsy: Cytomorphology, ZN staining and autofluorescence — making more of less. *Diagn. Cytopathol.*, 2008, vol. 36, no. 4, pp. 245–251. doi: 10.1002/dc.20788
27. Zeka A.N., Tasbakan S., Cavusoglu C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 2011, vol. 49, no. 12, pp. 4138–4141. doi: 10.1128/JCM.05434-11

Авторы:

Аайнус А., аспирант, центр медицинской биологии лаборатории микобактерий и туберкулеза, Институт Пастера Марокко, г. Касабланка, Марокко; аспирант кафедры биологии, лаборатория экологии и окружающей среды, отделение микробиологии научного факультета Бен М'Сик, Университет Хасана II, г. Касабланка, Марокко;

Момен Г., аспирант, центр медицинской биологии лаборатории микобактерий и туберкулеза, Институт Пастера Марокко, г. Касабланка, Марокко; лаборатория микробиологии, фармакологии, биотехнологии и окружающей среды, факультет науки Айн Чок, Университет Хасана II, г. Касабланка, Марокко;

Белгити А., к.н., лаборатория экологии и окружающей среды, отделение микробиологии научного факультета Бен М'Сик, Университет Хасана II, г. Касабланка, Марокко;

Беннани К., магистр здравоохранения, департамент эпидемиологии и контроля заболеваний, Министерство здравоохранения, г. Рабат, Марокко;

Ламаамал А., инженер-экспериментатор лаборатории микобактерий и туберкулеза, Институт Пастера Марокко, г. Касабланка, Марокко;

Шетиуи Ф., инженер-экспериментатор лаборатории микобактерий и туберкулеза, Институт Пастера Марокко, г. Касабланка, Марокко;

Мессауди М., инженер-экспериментатор лаборатории микобактерий и туберкулеза, Институт Пастера Марокко, г. Касабланка, Марокко;

Благен М., зав. лабораторией микробиологии, фармакологии, биотехнологии и окружающей среды, факультет науки Айн Чок, Университет Хасана II, г. Касабланка, Марокко; декан факультета наук Эль-Джадида, Университет Шуайба Дукали, г. Эль-Джадида, Марокко;

Муслим Д., к.н., профессор, лаборатория экологии и окружающей среды, отделение микробиологии научного факультета Бен М'Сик, Университет Хасана II, г. Касабланка, Марокко;

Кьятти М., к.н., ведущий научный сотрудник лаборатории вирусной онкологии, Институт Пастера Марокко, г. Касабланка, Марокко;

Эль Мессауди М.Д., магистр здравоохранения, зав. лабораторией микобактерий и туберкулеза, Институт Пастера Марокко, г. Касабланка, Марокко.

Authors:

Aainouss A., PhD Student, Medical Biology Center, Laboratory of Mycobacteria and Tuberculosis, Morocco Pasteur Institute, Casablanca, Morocco; PhD Student, Department of Biology, Laboratory of Ecology and Environment, Microbiology Unit, Faculty of Science Ben M'Sik, Hassan II University, Casablanca, Morocco;

Momen G., PhD Student, Medical Biology Center, Laboratory of Mycobacteria and Tuberculosis, Morocco Pasteur Institute, Casablanca, Morocco; PhD Student, Laboratory of Microbiology, Pharmacology, Biotechnology and Environment, Faculty of Science Ain Chock, Hassan II University, Casablanca, Morocco;

Belghiti A., PhD, Laboratory of Ecology and Environment, Microbiology Unit, Faculty of Science Ben M'Sik, Hassan II University, Casablanca, Morocco;

Bennani K., MD, MPH, Department of Epidemiology and Disease Control, Ministry of Health, Rabat, Morocco;

Lamaammal A., Engineer, Laboratory of Mycobacteria and Tuberculosis, Morocco Pasteur Institute, Casablanca, Morocco;

Chetioui F., Engineer, Laboratory of Mycobacteria and Tuberculosis, Morocco Pasteur Institute, Casablanca, Morocco;

Messaoudi M., Engineer, Laboratory of Mycobacteria and Tuberculosis, Morocco Pasteur Institute, Casablanca, Morocco;

Blaghen M., Head of the Laboratory of Microbiology, Pharmacology, Biotechnology and Environment, Faculty of Science Ain Chock, Hassan II University, Casablanca, Morocco; Dean of the Faculty of Sciences El Jadida, University Chouaib Doukkali, El Jadida, Morocco;

Mousslim J., PhD, Professor, Laboratory of Ecology and Environment, Microbiology Unit, Faculty of Science Ben M'Sik, Hassan II University, Casablanca, Morocco;

Khyatti M., PhD, Leading Researcher, Laboratory of Viral Oncology, Morocco Pasteur Institute, Casablanca, Morocco;

El Messaoudi M.D., MD, MPH, Head of Laboratory of Mycobacteria and Tuberculosis, Morocco Pasteur Institute, Casablanca, Morocco.

ОЦЕНКА СТАТУСА ЭЛИМИНАЦИИ КРАСНУХИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2019 г.

Т.С. Чехляева¹, О.В. Цвиркун^{1,2}, Н.В. Тураева¹, Д.В. Ерохов¹, Л.А. Баркинхоева¹,
Н.Т. Тихонова¹

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

² ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Резюме. В 2002 г. Европейским региональным бюро ВОЗ была разработана «Стратегическая программа предупреждения кори и врожденной краснушной инфекции в Европейском регионе», которая была пересмотрена в 2004 г. В результате пересмотра была поставлена дополнительная задача — элиминация эндемичной краснухи в регионе к 2010 г. Краснуха является заболеванием, хорошо управляемым посредством вакцинации, что определяет теоретическую возможность прерывания ее глобальной трансмиссии. В Российской Федерации с 2013 г. реализуется «Национальная программа по элиминации краснухи». Критерии элиминации подвергались пересмотру по мере реализации программы. В настоящее время основным критерием элиминации краснухи является отсутствие эндемичной (местной) передачи вируса в течение не менее 36 месяцев, что должно быть подтверждено молекулярно-генетическими методами исследования. Кроме того, в Российской Федерации в качестве одного из критериев элиминации используется также показатель заболеваемости — менее 1 случая на 1 млн населения. В пользу успешной реализации программы говорит тот факт, что с 2013 г. на фоне высокого (более 95%) охвата профилактическими прививками отмечается снижение показателей заболеваемости и их стабилизация на уровне менее 1 случая на 1 млн населения с 2014 г. В ходе мероприятий по молекулярно-генетическому мониторингу циркулирующих среди населения штаммов вируса краснухи отмечено прекращение эндемичной передачи вируса. В период реализации программы элиминации преобладающими генотипами вируса, циркулировавшими на территории России, были генотипы 1Е и 2В, имеющие глобальное распространение. Полученные по результатам молекулярно-генетического мониторинга данные позволили определить, что штаммы, изолированные в течение рассматриваемого периода, относятся к разным кластерам, что свидетельствует об их импортировании. Принимая во внимание вышперечисленные факторы — высокий охват прививками, низкую заболеваемость и отсутствие эндемичной передачи вируса, — экспертная комиссия ВОЗ по верификации элиминации кори и краснухи в 2017 г. присвоила Российской Федерации статус страны, достигнувшей элиминации краснухи. Сохранение фазы элиминации инфекции подтверждается ежегодно. В настоящей статье приводятся результаты комплексной оценки статуса элиминации краснухи на территории Российской Федерации специалистами «Национального научно-методического центра по кори и краснухе» и региональной референс-лаборатории ВОЗ по кори и краснухе на основании эпидемиологических данных и данных молекулярно-генетических исследований в 2019 г.

Ключевые слова: краснуха, элиминация, эпидемиология, надзор, генотип, вирус краснухи.

Адрес для переписки:

Чехляева Татьяна Сергеевна
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10,
ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (495) 452-28-26.
E-mail: chekhliaeva@yandex.ru

Contacts:

Tatiana S. Chekhlyayeva
125212, Russian Federation, Moscow, Admiral Makarov str., 10,
G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology
and Microbiology.
Phone: +7 (495) 452-28-26.
E-mail: chekhliaeva@yandex.ru

Для цитирования:

Чехляева Т.С., Цвиркун О.В., Тураева Н.В., Ерохов Д.В.,
Баркинхоева Л.А., Тихонова Н.Т. Оценка статуса элиминации краснухи
в Российской Федерации в 2019 г. // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12,
№ 1. С. 85–94. doi: 10.15789/2220-7619-ATR-1663

Citation:

Chekhlyayeva T.S., Tsvirkun O.V., Turaeva N.V., Erokhov D.V.,
Barkinkhoyeva L.A., Tikhonova N.T. Assessing the 2019 rubella elimination
status in the Russian Federation // Russian Journal of Infection and
Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 85–94.
doi: 10.15789/2220-7619-ATR-1663

ASSESSING THE 2019 RUBELLA ELIMINATION STATUS IN THE RUSSIAN FEDERATIONChekhlyayeva T.S.^a, Tsvirkun O.V.^{a,b}, Turaeva N.V.^a, Erokhov D.V.^a, Barkinkhoeva L.A.^a, Tikhonova N.T.^a^a G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation^b The Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Abstract. In 2002, the WHO Regional Office for Europe developed the Strategic Program for the Prevention of Measles and Congenital Rubella Infections in the European Region, which was revised in 2004. As a result of the revision, an additional target was set to eliminate endemic rubella in the region by 2010. Rubella is a disease well controlled by vaccination that accounts for a theoretical potential to interrupt its global transmission. Since 2013, the Russian Federation has been implementing the National Rubella Elimination Program. Elimination criteria have been revised as the Program proceeds. Currently, the main criterion for rubella elimination is the absence of endemic (local) virus transmission for at least 36 months, which should be confirmed by molecular genetic research methods. In addition, in the Russian Federation, an incidence rate of less than 1 case per 1 million population is also used as one of the elimination criteria. Since 2013, due to a high (over 95%) coverage of preventive vaccinations a decrease in incidence rates and their stabilization at a level of less than 1 per 1 million population since 2014 state in favor of successfully implemented Program. Genetic monitoring of rubella virus strains circulating in human population noted the termination of endemic virus transmission. While implementing the Elimination Program, the prevailing virus genotypes that circulate in Russia were found to be genotypes 1E and 2B showing a global distribution. The data obtained after molecular genetic monitoring allowed to find that the strains isolated during this period belonged to different clusters accounting for in favor of being imported. Considering the above factors such as high vaccination coverage, low incidence rate and lack of endemic virus transmission, the 2017 WHO Committee on verification of measles and rubella elimination assigned the Russian Federation the status of a country that has achieved rubella elimination. The continuation of the phase of infection elimination is confirmed annually. This article presents the results on comprehensive assessment of rubella elimination status in the Russian Federation by specialists from the National Scientific and Methodological Center for Measles and Rubella and WHO EURO Moscow regional reference laboratory for measles and rubella based on 2019 epidemiological data and molecular genetic studies.

Key words: rubella, elimination, epidemiology, surveillance, genotype, Rubella virus.

Введение

В 2002 г. Европейским региональным бюро ВОЗ была разработана «Стратегическая программа предупреждения кори и врожденной краснушной инфекции в Европейском регионе».

В октябре 2004 г. программа была пересмотрена на региональном совещании руководителей программ иммунизации и консультативной группы экспертов ЕРБ ВОЗ. Наряду с элиминацией кори и предупреждением ВКИ в программу была включена задача элиминации краснухи к 2010 г. [11].

В Российской Федерации с 2013 г. успешно реализуется программа элиминации краснухи, которая была интегрирована в уже существующую программу элиминации кори. Этому предшествовала разработка с 2008 г. нормативно-распорядительных документов по совершенствованию эпидемиологического надзора за краснухой.

Критерии элиминации подвергались пересмотру по мере реализации программы; в настоящее время основным критерием элиминации краснухи является отсутствие эндемичной (местной) передачи вируса в течение не менее 36 месяцев, что должно быть подтверждено молекулярно-генетическими методами исследования. В Российской Федерации в качестве критерия элиминации используется также показатель заболеваемости — менее 1 случая на 1 млн населения.

В России охват вакцинацией против краснухи детей в возрасте одного года поддерживается на уровне не менее 95% с 2006 г., охват ревакцинацией на этом уровне детей в возрасте 6 лет — с 2008 г. В 2014 г. в РФ впервые достигнут целевой показатель элиминации инфекции — менее 1 случая на 1 млн населения, который сохраняется до настоящего времени.

Количество заболевших краснухой в 2016 г. составило 38 человек, случаи были зарегистрированы на территориях 10 субъектов страны.

В следующие два года, 2017 г. и 2018 г., зарегистрировано по 5 случаев заболевания краснухой, интенсивный показатель заболеваемости составил 0,004 на 100 тыс. населения. Низкая заболеваемость и отсутствие эндемичной передачи вируса позволили Европейской региональной комиссии по верификации элиминации кори и краснухи ВОЗ признать факт достижения элиминации краснухи на территории Российской Федерации в 2017–2018 гг.

В 2019 г. количество случаев краснухи увеличилось до 34 (0,03 на 100 тыс. населения), однако в стране сохраняется фаза элиминации инфекции, что подтверждается не только эпидемиологическими данными, но и результатами молекулярно-генетических исследований выделенных штаммов вируса.

Цель настоящей работы состоит в комплексной оценке статуса элиминации краснухи на территории Российской Федерации на ос-

новании эпидемиологических данных и данных молекулярно-генетических исследований в 2019 г.

Материалы и методы

В основу проведенных эпидемиологических исследований положен анализ данных официальной государственной статистики (формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», № 5 «Сведения о профилактических прививках», № 6 «Сведения о контингентах детей и взрослых, привитых против инфекционных заболеваний»), отчетов 10 региональных центров по надзору за корью и краснухой, карт эпидрасследования случая заболевания краснухой или подозрительного на эту инфекцию, информационно-аналитических бюллетеней Национального научно-методического центра по надзору за корью и краснухой (ННМЦ). Для анализа данных использовался описательно-оценочный метод.

Сыворотки крови от больных для лабораторного подтверждения диагноза «краснуха» были взяты в сроки от 4 до 28 дней с момента появления сыпи в соответствии со стандартами лабораторной диагностики [4, 12]. Исследования осуществляли методом ИФА с использованием коммерческого набора «ИФА-Краснуха-IgM» производства фирмы «ЭКОлаб» (Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Клиническими образцами для молекулярно-генетических исследований послужили образцы мочи, сыворотки и назофарингеальных соскобов, собранных не позднее 5 дня с момента появления сыпи, в соответствии с принятыми методическими рекомендациями, от 16 больных краснухой [1, 12]. Образцы были собраны в Оренбурге (2018 г. — 2 шт., 2019 г. — 5 шт.), Санкт-Петербурге (2019 г. — 7 шт.), Уфе (2019 г. — 1 шт.) и Москве (2019 г. — 1 шт.).

Экстракцию РНК вируса краснухи из клинических образцов проводили с использованием набора Qiagen QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Германия, кат. № 52906).

Исследование образцов на наличие РНК вируса краснухи проводили методом ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени. Образцы со значением порогового цикла (Ct) менее 35 считались положительными. Амплификацию участка генома вируса (739 н.т. гена E1) для последующего анализа осуществляли методом ОТ-ПЦР с использованием набора реактивов Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogen, США, кат. № 11304011) и комплекта специфических праймеров (смысловый праймер AGCGACGCGGCCTGCTGGGG, антисмысловый праймер CGCCCAGGTCTGCCGGGTCTC) и вложенной ПЦР (смысловый праймер

GTGATGAGCGTGTTCGCCCT, антисмысловый праймер GTGTGTGCCATACACCACGCC).

Детекция продуктов ПЦР проводилась в 2% агарозном геле с использованием интеркалирующего агента бромистого этидия.

Полученные ПЦР-продукты были очищены на колонках Qiagen QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Германия, кат. № 28706) и использованы в качестве матрицы для сиквенсовой реакции с BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ThermoFisher, США) по методике, рекомендованной производителем.

Нуклеотидные последовательности обрабатывали с помощью программного пакета SeqScape Software 3 (ThermoFisher, США).

Определение генетической принадлежности выделенных штаммов проводили с использованием алгоритма BLAST. Реконструкцию филогенетических событий проводили в программе MEGA-X по методу «ближайших соседей» [8]. Эволюционная дистанция между штаммами определена по трехпараметрическому методу Тамуры [10]. Достоверность различия между группами оценивали на основании анализа 500 бустреп-повторов. Достоверными считали группы с процентом поддержки выше 70.

Для филогенетического анализа была взята выборка штаммов ($n = 65$). Российские штаммы изолированы на базе ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора в разные годы, информация о нуклеотидных последовательностях прочих штаммов получена из базы данных NCBI GenBank.

Результаты

В довакцинальный период заболеваемость колебалась от 89,3 до 399,3/100 тыс. населения (рис. 1).

Плановая вакцинация против краснухи повсеместно стала проводиться с 2002 г. Охват вакцинацией детей второго года жизни достиг 95% уровня в 2006 г., а ревакцинацией в 6 лет — в 2008 г. Увеличение числа привитых против краснухи как за счет плановой иммунизации, так и компании 2006–2007 гг. в рамках национального проекта «Здоровье», когда было привито более 11 млн детей, подростков и женщин в возрасте до 25 лет, способствовало снижению заболеваемости. Так, уже с 2010 г. интенсивный показатель заболеваемости не превышал единицы на 100 тыс. населения, а с 2014 г. не превышал единицы на млн жителей, стабилизировавшись на уровне 0,05 (2014 г.) — 0,003 (2017–2018 гг.) на 100 тыс. населения.

В 2017 г. впервые был зафиксирован исторический минимум заболеваемости, 5 случаев на 5 территориях, в 2018 г. успех повторился. В 2019 г. ситуация изменилась, было зарегистрировано

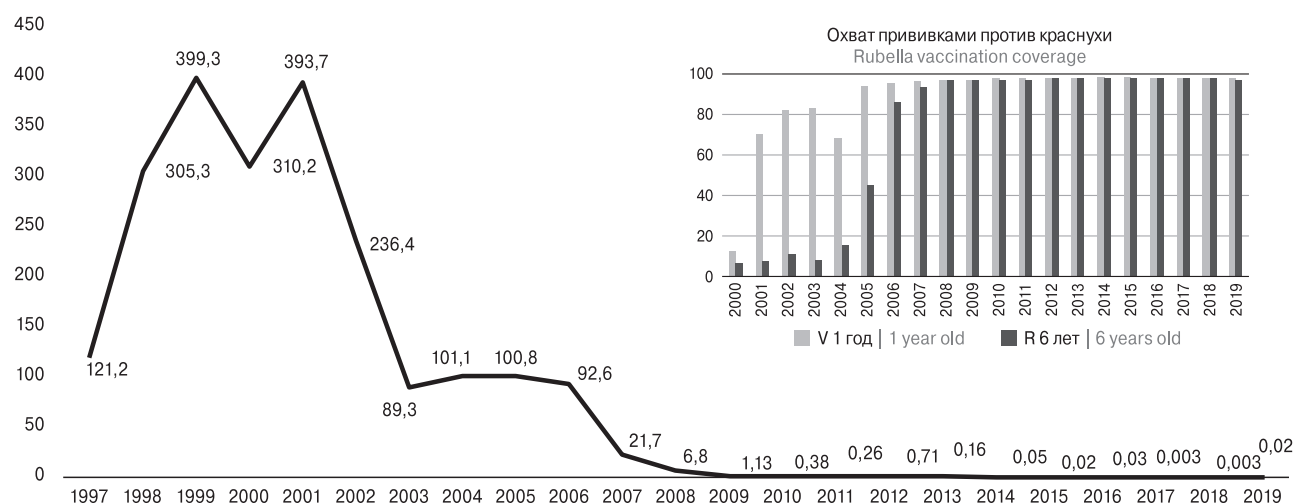


Рисунок 1. Динамика заболеваемости краснухой в Российской Федерации в 1997–2019 гг. и охват прививками против краснухи в декретированных возрастах в 2000–2019 гг.

Figure 1. Dynamics of 1997–2019 rubella incidence in the Russian Federation and 2000–2019 rubella vaccination coverage at prescribed ages

Таблица. Результаты генотипирования вируса краснухи, 2018–2019 гг.

Table. 2018–2019 rubella virus genotyping data

№ No.	Тип образца Type of sample	Дата появления сыпи Rash dated	Генотип Genotype	Штамм Strain
1	Моча Urine	26.11.2018	2B	RVs/Orenburg.RUS/48.18/
2	Моча Urine	03.12.2018	2B	RVs/Orenburg.RUS/49.18/
3	Моча Urine	02.02.2019	2B	RVs/Orenburg.RUS/5.19/
4	Моча Urine	13.02.2019	2B	RVs/Orenburg.RUS/7.19/
5	Моча Urine	13.02.2019	2B	RVs/Orenburg.RUS/7.19/2
6	Моча Urine	13.02.2019	2B	RVs/Orenburg.RUS/7.19/3
7	Моча Urine	14.02.2019	2B	RVs/Orenburg.RUS/7.19/4
8	Сыворотка Serum	13.03.2019	2B	RVs/Moscow.RUS/11.19/
9	Моча Urine	19.05.2019	1E	RVs/Ufa.RUS/21.19/
10	Моча Urine	20.05.2019	1E	RVs/St.Petersburg.RUS/21.19/
11	Моча Urine	09.06.2019	1E	RVs/St.Petersburg.RUS/24.19/
12	Соскоб с носоглотки Nasopharyngeal swab	20.06.2019	1E	RVs/St.Petersburg.RUS/25.19/
13	Соскоб с носоглотки Nasopharyngeal swab	28.06.2019	1E	RVs/St.Petersburg.RUS/27.19/
14	Соскоб с носоглотки Nasopharyngeal swab	01.07.2019	1E	RVs/St.Petersburg.RUS/27.19/2
15	Моча Urine	03.07.2019	1E	RVs/St.Petersburg.RUS/27.19/3
16	Соскоб с носоглотки Nasopharyngeal swab	26.07.2019	1E	RVs/St.Petersburg.RUS/31.19/

34 случая краснухи на 7 территориях, показатель заболеваемости краснухой вырос по сравнению с прошлым годом в 7,5 раз, сохраняясь при этом на уровне менее 1 на 1 млн населения.

В разрезе территорий Российской Федерации заболеваемость распределилась следующим образом: Санкт-Петербург — 18 случаев, Оренбургская область — 8 случаев, по 2 случая зарегистрировано в Москве, Ульяновской области, в Республике Башкортостан, по 1 случаю — в Орловской и Тюменской областях. Все случаи подтверждены лабораторно посредством определения специфических IgM в сыворотке крови больных.

Анализ внутригодовой динамики заболеваемости показал, что случаи краснухи регистрировались в течение 7 месяцев: с февраля по август. Среди зарегистрированных случаев 30 (88,2%) имели эпидемиологическую классификацию «местные», 4 (11,8%) случая были классифицированы как «импортированные». Установлено, что 2 случая были импортированы из Китая в Орловскую область и Республику Башкортостан, 1 случай импортирован из Камбоджи в Москву, 1 случай — из Германии в Республику Башкортостан.

На наличие IgM-антител к вирусу краснухи лабораторно обследовано 7451 человек, показатель отмененных случаев в 2019 г. составил 5,0/100 тыс. населения, что выше регламентированного ВОЗ показателя 2,0/100 тыс. населения. Показатели чувствительности эпидемиологического надзора были подтверждены равномерным в течение года обследованием больных с подозрением на краснуху и с другими экзантемными заболеваниями, а также репрезентативностью отмененных случаев в разрезе территорий страны, которая составила 98,8% (против регламентируемого ВОЗ 80%).

Участок генома вируса краснухи для генотипирования удалось амплифицировать в 100% случаев. По результатам анализа нуклеотидных последовательностей установлено, что 8 образцов принадлежат к генотипу 1E, 8 — к генотипу 2B (табл.).

Нуклеотидные последовательности штаммов, выделенных от больных в 2018–2019 гг., имели существенные отличия от последовательностей, выделенных в предыдущие годы. Проведенный филогенетический анализ показал, что внутри каждого из генотипов формируются отдельные кластеры, включающие в себя штаммы, выделенные в разные периоды циркуляции вируса (рис. 2, 3).

Установлено, что штаммы вируса краснухи генотипа 1E, выделенные на территории России в разные годы, формируют три кластера. Штаммы генотипа 1E, изолированные в период элиминации, принадлежат к кластеру

3-1E, тогда как более ранние штаммы принадлежат к кластерам 1-1E и 2-1E.

Топология филогенетического дерева штаммов генотипа 2B, в разные годы изолированных в России, позволяет выделить два кластера штаммов. Вирусы генотипа 2B, изолированные в течение проанализированного периода 2018–2019 гг., относятся к кластеру 2-2B, имея, однако, существенные отличия в нуклеотидных последовательностях 739 н.т. гена *E1* от штаммов, выделенных в более ранние годы.

Полученные последовательности были депонированы в международную базу данных RubeNS (Rubella Nucleotide Surveillance Database), штаммам присвоены названия в соответствии с принятой номенклатурой наименования диких штаммов вируса краснухи [1, 6].

Обсуждение

Благодаря успехам в реализации глобальных и региональных программ элиминации краснухи и предупреждения врожденной краснухи отмечается существенное снижение заболеваемости этой инфекции в мире [2, 13]. Однако, несмотря на интеграцию системы эпидемиологического надзора за краснухой в систему общественного здравоохранения большинства стран — членов ВОЗ, в ряде стран наблюдаются трудности с обеспечением регистрации и лабораторным подтверждением случаев; генотипирование штаммов вируса с целью определения характера циркуляции и сообщение результатов в глобальную специализированную базу данных RubeNS (<http://www.who-rubella.org>) по состоянию на 2018 г. проводилось на регулярной основе в 35 странах мира [3, 5, 7, 14].

Из всех стран, подающих отчетность в ВОЗ, наибольшее количество случаев краснухи в 2015–2020 гг. было зарегистрировано в странах Восточной (Китай, Япония), Юго-Восточной (Вьетнам, Филиппины) и Южной Азии (Пакистан, Индия) и Африканского континента (Судан, Конго, Уганда, ЮАР, Эфиопия, Нигерия) [2, 14].

В странах Европейского региона ВОЗ в последние годы отмечается стабилизация заболеваемости краснухой на низком уровне, 79% стран региона достигли элиминации эндемичной краснухи [3].

Снижение заболеваемости краснухой привело к существенному изменению генетического разнообразия циркулирующих штаммов вируса. Известно 13 генотипов вируса краснухи, 12 из которых (1B-1J, 2A-2C) включают в себя штаммы «дикого типа», циркулировавшие в мире в разные годы. Благодаря успехам в достижении элиминации краснухи большинство из известных генотипов в настоящее вре-

мя относится к так называемым «вымершим», передача которых была прервана на 10 и более лет [6]. Согласно доступным данным, с середины 2017 г. заболеваемость краснухой в мире связана преимущественно со штаммами вирусов, принадлежащими к генотипам 1Е и 2В [5, 7].

В Российской Федерации наряду с «Региональной программой ВОЗ по элиминации краснухи действует «Национальная программа элиминации краснухи 2016–2020 гг.». Об их успешной реализации говорит тот факт, что с 2016 г. в стране на фоне высокого охвата профилактическими прививками против краснухи ($\geq 95\%$ населения) отмечаются исторически самые низкие показатели заболеваемости. Однако рост уровня заболеваемости в 2019 г., по сравнению с показателями 2017–2018 гг., преимущественно за счет случаев с эпидемиологической

классификацией «местные», потребовал комплексного анализа состояния элиминации инфекции на территории страны.

В 2019 г. в Санкт-Петербурге была зарегистрирована вспышка краснухи, которая длилась с 04.05 по 26.07. В ходе эпидемиологического расследования было установлено, что все случаи заболевания являются местными. Средний возраст заболевших составил 27,4 года, причем все заболевшие либо были не привиты против краснухи, либо не имели прививочного анамнеза. О сложности диагностики легких форм краснухи свидетельствует тот факт, что краснуха была заподозрена у 11 больных, 2 случая были выявлены при обследовании больных с пятнисто-папулезной сыпью и лихорадкой, 5 случаев выявлено при обследовании больных с подозрением на корь.

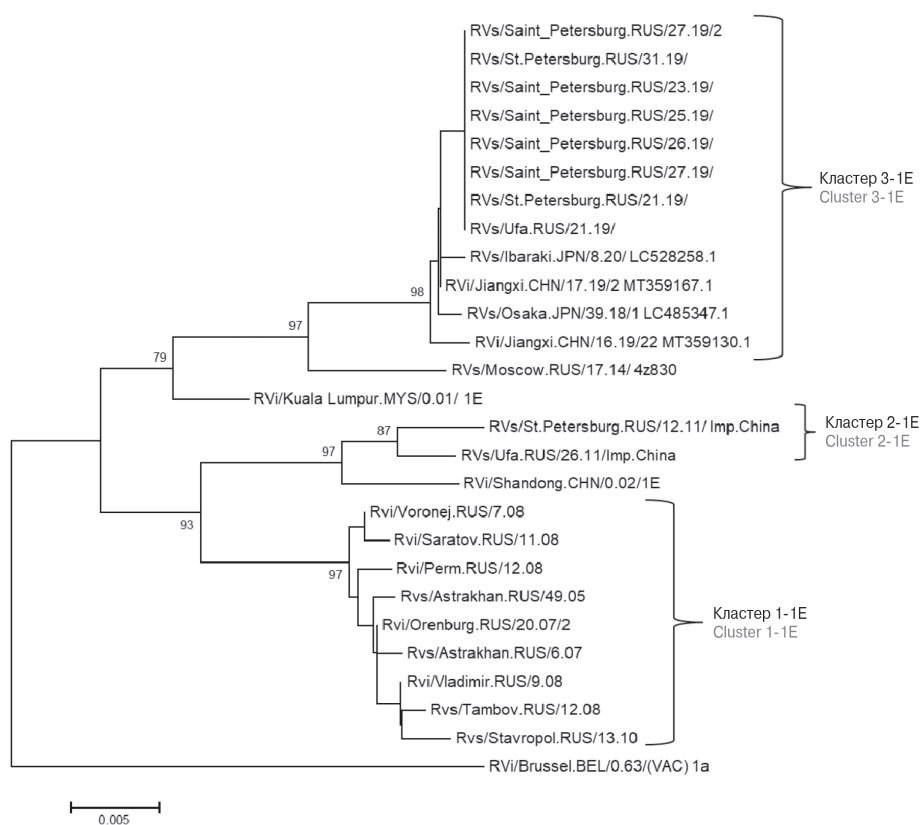


Рисунок 2. Иллюстрация филогенетических взаимоотношений штаммов вируса краснухи генотипа 1Е, изолированных на территории РФ и в других странах

Figure 2. An illustration of the phylogenetic relationships for genotype 1E rubella virus strains isolated in the Russian Federation and in other countries

Примечание. Количество сиквенов $n = 27$. Дерево построено на основании нуклеотидной последовательности 739 н.т. гена E1 с использованием трехпараметрической модели Тамуры по алгоритму «ближайших соседей». Цифры в узлах дерева — процент от 500 бутстреп-репликатов, поддерживающих группу. В качестве «внешней группы» взят вакцинный штамм вируса краснухи генотипа 1а Rvi/Brussel.BEL/0.63/(VAC). Референс-штаммы генотипа 1Е-Rvi/Kuala Lumpur.MYS/0.01 и Rvi/Shandong.CHN/0.02 [8].

Note. The number of sequences was $n = 27$. The tree is constructed based on the 739 bp nucleotide sequence in the E1 gene using the 3-parameter Tamura model and the “neighbor joining” algorithm. The numbers in the tree nodes denote percentage of the 500 boot replicates that support the group. A rubella virus vaccine strain of genotype 1a Rvi/Brussel.BEL/0.63/(VAC) was considered as an out-group. Reference strains of genotype 1E-Rvi/Kuala Lumpur.MYS/0.01 and Rvi/Shandong.CHN/0.02 [8].

Предполагаемый источник инфицирования установлен для 7 больных из 18. Определены цепочки передачи: по месту работы (4 случая), по месту проживания (2 случая); место предполагаемого заражения — фестиваль «Эпикон», проходивший с 27 по 29 апреля 2019 г. (1 случай).

По результатам проведенных молекулярно-генетических исследований в отношении двух цепочек вторичного распространения инфекции в Санкт-Петербурге и двух случаев, не имевших эпидемиологической связи с пред-

полагаемыми источниками инфекции, эти случаи были объединены в одну вспышку, связанную с вирусами краснухи генотипа 1Е.

Реконструкция филогении выделенных штаммов вируса позволила выделить 3 кластера на филогенетическом дереве, относящиеся к разным периодам циркуляции.

Кластеры 1-1Е и 2-1Е включают в себя генетические варианты вируса, циркуляция которых регистрировалась в период 2005–2011 гг. Циркуляция штаммов, принадлежащих к ука-

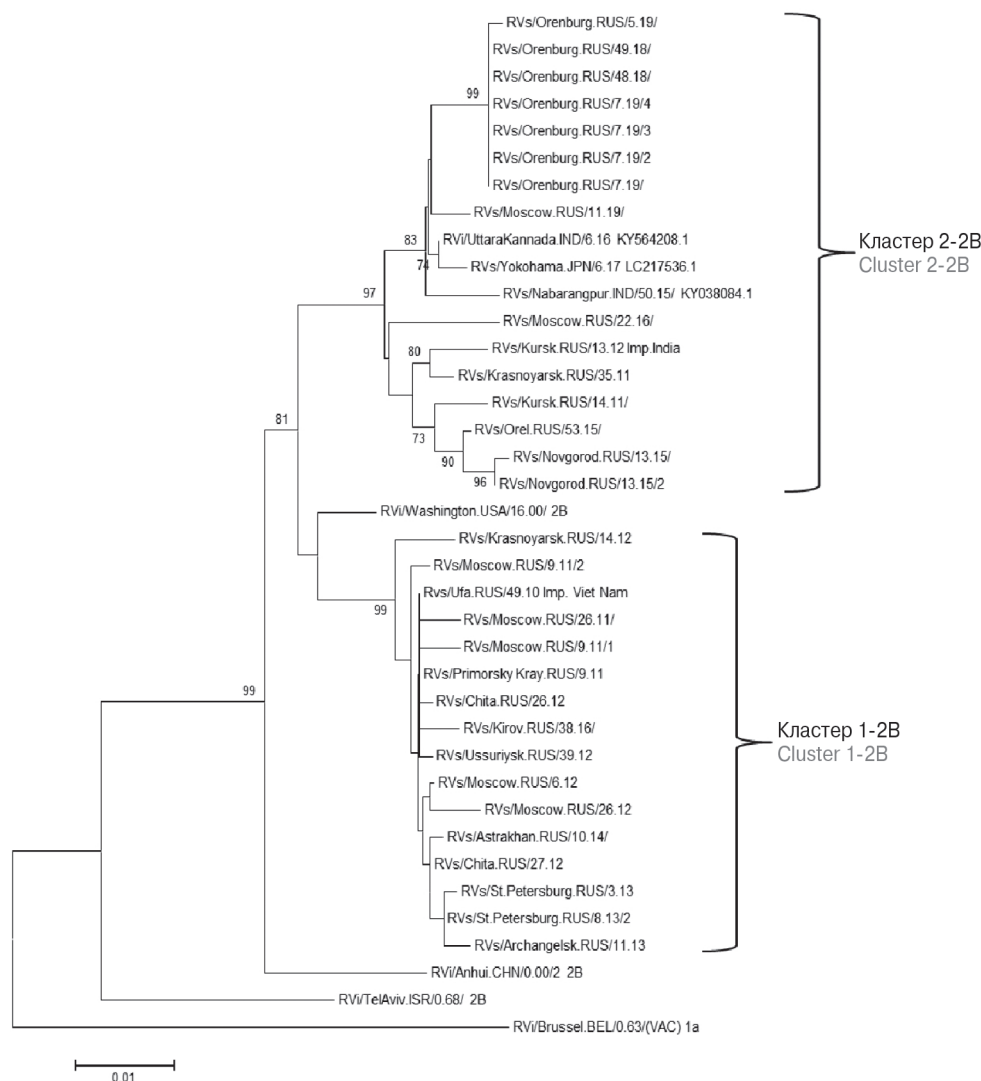


Рисунок 3. Иллюстрация филогенетических взаимоотношений штаммов вируса краснухи генотипа 2В, изолированных на территории РФ и в других странах

Figure 3. An illustration of phylogenetic relationships for genotype 2B rubella virus strains isolated in the Russian Federation and in other countries

Примечание. Количество сиквенсов $n = 38$. Дерево построено на основании нуклеотидной последовательности 739 н.т. гена E1 с использованием трехпараметрической модели Тамуры по алгоритму «ближайших соседей». Цифры в узлах дерева — процент от 500 бутстреп-репликатов, поддерживающих группу. В качестве «внешней группы» взят вакцинный штамм вируса краснухи Rv/Brussel.BEL/0.63/(VAC).

Note. The number of sequences was $n = 38$. The tree is constructed based on the 739 bp nucleotide sequence of the E1 gene using the three-parameter Tamura model for the “neighbor joining” algorithm. The numbers in the tree nodes denote the percentage of 500 boot replicates that support the group. Rubella virus vaccine strain Rv/Brussel.BEL/0.63/(VAC) was considered as an out-group.

занным кластерам, носила ограниченный, местный характер. В период с 2011 г. по настоящее время на территории России более не изолировались штаммы, эволюционно близкие к ним.

Штаммы, изолированные от вспышки в Санкт-Петербурге в 2019 г., принадлежат к кластеру 3-1Е. Кроме того, при комплексном расследовании случая краснухи у больной, прибывшей 02.05.2019 из туристической поездки по Германии и Нидерландам в Уфу (Республика Башкортостан), выявлен идентичный штамм вируса.

Поиск нуклеотидных последовательностей близкородственных штаммов позволил включить в кластер выборку штаммов, циркулировавших на территории Китая и Японии в 2018–2020 г. Эволюционная дистанция $p_{(T)}$ между штаммами, изолированными в Санкт-Петербурге и Уфе, и штаммами из Японии и Китая в кластере 3-1Е составляет 0,00127 и 0,00343 соответственно. Кроме того, при реконструкции филогении в группу был включен штамм, изолированный в Москве в 2014 г. Дистанция $p_{(T)}$ между этим штаммом и штаммами 2019 г. составила 0,016, что указывает на более раннее время дивергенции от общего предка. Однако с учетом ограниченных данных о генетическом разнообразии вируса краснухи, что связано с небольшим количеством стран, проводящих генетическое типирование вируса, полученные нами результаты филогенетического анализа не позволяют однозначно классифицировать случаи как «местные (эндемичные)» или «импортированные».

Другая вспышка краснухи на территории страны произошла в Оренбурге. Первый случай заболевания был зарегистрирован 27.11.2018 (дата появления сыпи — 26.11.2018) у иностранного студента 2 курса медицинского университета, прибывшего из Индии в августе 2018 г. Эпидемиологическое расследование позволило предположить, что заражение могло произойти по месту проживания: в хостеле, где размещались студенты 1 курса, прибывшие из разных штатов Индии, с 24.10 по 02.11.2018. Случай расценен как связанный с завозным.

В начале декабря, 03.12.2018, был зарегистрирован второй случай краснухи среди иностранных студентов университета. Однако третий случай заболевания отмечен только через 2 месяца — 02.02.2019. Учитывая отсутствие случаев краснухи среди местного населения города и области, было принято решение проверить журнал учета обращаемости студентов за медицинской помощью в клинику адаптационной терапии этого университета. В результате ретроспективно было выявлено 2 пропущенных случая, с диагнозом «Острый лимфаденит»

и сопровождающихся сыпью (даты появления сыпи — 26.12.2018 и 17.01.2019).

Лабораторно обследовать удалось только второго студента. В результате исследования были выявлены IgM-антитела к вирусу краснухи. Несмотря на то, что первый пропущенный случай краснухи не был подтвержден и зарегистрирован, полученные данные дали основание предположить наличие эпидемиологической связи между случаями ноября–декабря 2018 г. и февраля–марта 2019 г. Последующее распространение инфекции среди индийских студентов было связано как с процессом обучения, так и с совместным проживанием в кампусах (комната, этаж). Таким образом, заболело 10 студентов медуниверситета, в возрасте от 18 до 22 лет, прибывших из Индии без сведений о вакцинации против краснухи. Заболевание протекало в 90,9% случаев в среднетяжелой форме.

Генотипировано 7 случаев краснухи в Оренбурге; установлено, что все они ассоциированы со штаммами вируса генотипа 2В. Проведенный филогенетический анализ штаммов генотипа, выделенных в разные периоды на территории России, позволил разделить штаммы на два кластера.

Кластер 1-2В включает в себя штаммы, изолированные преимущественно в 2011–2013 гг. Внутри кластера не отмечается четкой дифференцировки на субкластеры. Вероятно, это обусловлено множественным импортированием из эндемичных по предковому варианту регионов мира и отсутствием длительной местной передачи вирусов, образующих кластер 1-2В. Достаточно обособленно в рамках кластера на филогенетическом дереве находится штамм RVs/Krasnoyarsk.RUS/14.12, демонстрирующий наибольшее родство со штаммами, циркулировавшими в 2008–2013 гг. в странах Южной Америки.

Штаммы вируса краснухи, ассоциированные со вспышкой заболевания в Оренбурге, относятся к кластеру 2-2В. Выделенные в указанный период штаммы формируют субкластер с высокой бутстреп-поддержкой с вирусами, циркулировавшими в 2015–2019 гг. в Японии и Индии.

Анализ расчетной дистанции между штаммами внутри субкластера позволил установить, что штаммы из Оренбурга наиболее близки к штаммам, изолированным в Индии в 2016 г. ($p_{(T)} = 0,00294$). Все случаи в Оренбурге классифицированы как связанные с импортированным случаем. Результаты, полученные в ходе проведения молекулярно-генетических исследований штаммов вируса краснухи, выделенных от 7 заболевших, подтвердили единый источник заражения и результаты эпидемиологического расследования.

Единый случай краснухи, зарегистрированный в Москве, также был связан со штаммом вируса генотипа 2В. Несмотря на то, что штамм RVs/Moscow.RUS/11.19 кластеризуется со штаммами, выделенными в Оренбурге, он эволюционно ближе к штаммам краснухи, циркулировавшим в Японии в 2017 г. ($p_{(T)} = 0,00326$). Эпидемиологическое расследование позволило классифицировать случай как «местный», однако результаты молекулярно-генетических исследований не позволяют исключить его независимое импортирование.

Топология филогенетического дерева штаммов генотипа 2В демонстрирует, что штаммы, изолированные на территории России в предыдущие годы, образуют единый кластер со штаммами 2018–2019 гг., однако отстоят от них достаточно далеко в эволюционном отношении, что является одним из доказательств прерывания активной местной циркуляции вируса и связи случаев заболевания преимущественно с импортированием.

Заключение

Поддержание высокого охвата прививками против краснухи в декретированных возрастах и осуществление эффективного эпидемиологического надзора за инфекцией позволяют надеяться на поддержание элиминации краснухи в будущем.

Результаты молекулярно-генетических исследований показали, что в России в период элиминации циркулируют вирусы, принадле-

жащие к генотипам 1Е и 2В. Штаммы указанных генотипов имеют практически глобальное распространение, преимущественно за счет импортирования из стран с активной циркуляцией вируса краснухи.

За период 2018–2019 гг. не отмечено случаев заболевания краснухой, которые можно было бы охарактеризовать как эндемичные. Следовательно, данные генетического мониторинга подтверждают сохранение фазы элиминации краснухи на территории Российской Федерации, которая, по заключению ВОЗ, началась в 2017 г.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность

Авторы выражают глубокую признательность сотрудникам управления Роспотребнадзора в Москве, Санкт-Петербурге, Оренбургской области, Республике Башкортостан, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Оренбургской области, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Москве и ФБУН Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт им. Пастера Роспотребнадзора за проведение эпидемиологического расследования и серологических исследований для лабораторного подтверждения случаев краснухи.

Список литературы/References

1. Генетический мониторинг циркуляции вирусов кори и краснухи: методические рекомендации. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. 31 с. [Genetic monitoring of the circulation of measles and rubella viruses: guidelines. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2019. 31 p. (In Russ.)] URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293730/4293730377.pdf>
2. Компьютеризованная информационная система по инфекционным заболеваниям (ЦИСИЗ). [CISID database. (In Russ.)] URL: <http://data.euro.who.int/cisid>
3. Материалы восьмого совещания европейской региональной комиссии по верификации элиминации кори и краснухи. 12–14 июня, 2016 г. Варшава, Польша. [Eighth meeting of the European Regional Verification Commission for Measles and Rubella Elimination (RVC). 12–14 June, 2016. Warsaw, Poland. (In Russ.)] URL: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0003/417900/RVC_Rus.pdf
4. Bellini W.J., Icenogle J.P. Measles and rubella viruses. In: Manual of Clinical Microbiology. 9th edition. Ed. by P.R. Murray, E.J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller. Washington, D.C.: ASM Press, 2007. doi: 10.1128/9781555817381.ch87
5. Brown K.E., Rota P.A., Goodson J.L., Williams D., Abernathy E., Takeda M., Mulders M.N. Genetic characterization of measles and rubella viruses detected through Global Measles and Rubella Elimination Surveillance, 2016–2018. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.*, 2019, vol. 68, no. 26, pp. 587–591. doi: 10.15585/mmwr.mm6826a3
6. Rubella virus nomenclature update: 2013. *Wkly Epidemiol. Rec.*, 2013, vol. 88, pp. 337–348.
7. RubeNS database. URL: www.who-rubella.org
8. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 1987, vol. 4, pp. 406–425. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454
9. Standardization of the nomenclature for genetic characteristics of wild-type rubella viruses. *Wkly Epidemiol. Rec.*, 2005, vol. 80, no. 14, pp. 126–132.
10. Tamura K. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases. *Mol. Biol. Evol.*, 1995, vol. 9, pp. 678–687. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752
11. WHO. Global Measles and Rubella strategic plan 2012–2020. Geneva: WHO, 2011. 44 p.

12. WHO. Manual for the laboratory-based surveillance of measles, rubella, and congenital rubella syndrome, 3rd edition. Geneva: WHO, 2018. URL: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/manual/en
13. WHO. Surveillance for Vaccine Preventable Diseases (VPDs). URL: <https://www.who.int/teams/immunization-vaccines-and-biologicals/immunization-analysis-and-insights/surveillance/surveillance-for-vpds>
14. WHO. The Global Health Observatory (WHO datadase). URL: <https://www.who.int/data/gho>

Авторы:

Чехляева Т.С., руководитель лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Цвиркун О.В., д.м.н., руководитель эпидемиологического отдела ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия; доцент кафедры инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

Тураева Н.В., к.м.н., руководитель лаборатории профилактики вирусных инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Ерохов Д.В., младший научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Баркинхоева Л.А., младший научный сотрудник лаборатории профилактики вирусных инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Тихонова Н.Т., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории цитокинов ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия.

Authors:

Chekhlyayeva T.S., Head of the Laboratory of Applied Immunochemistry, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Tsvirkun O.V., PhD, MD (Medicine), Head of the Epidemiology Department, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation; Associate Professor, Department of Infectious Diseases with Courses in Epidemiology and Phthisiology, The Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation;

Turaeva N.V., PhD (Medicine), Head of the Laboratory for Viral Infections Prevention, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Erokhov D.V., Junior Researcher, Laboratory of Applied Immunochemistry, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Barkinkhoeva L.A., Junior Researcher, Laboratory for Viral Infections Prevention, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Tikhonova N.T., PhD, MD (Biology), Professor, Head Researcher, Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

С.А. Портенко¹, Е.С. Казакова¹, Е.В. Найденова¹, Н.А. Осина¹, М.В. Проскурякова¹,
А.Д. Катышев¹, Е.А. Шаркова¹, О.В. Кедрова¹, Е.А. Чумачкова¹, М.Р. Шамьюнов²,
В.Ф. Харитонов³, Л.А. Гурьева⁴, Н.Ю. Попова⁵, Л.В. Максимова⁶, С.А. Бугоркова¹,
С.А. Щербакова¹, В.В. Кутырев¹

¹ ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

² ГУЗ Саратовская городская клиническая больница № 5, г. Саратов, Россия

³ ГУЗ Саратовская детская инфекционная клиническая больница № 5, г. Саратов, Россия

⁴ ГУЗ Саратовская городская поликлиника № 2, г. Саратов, Россия

⁵ ГУЗ Перинатальный центр, г. Саратов, Россия

⁶ ГУЗ Саратовская городская клиническая больница № 10, г. Саратов, Россия

Резюме. Внебольничные пневмонии относятся к полиэтиологическим инфекционным заболеваниям бактериальной или вирусной природы. В большинстве случаев они обусловлены такими возбудителями, как *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella* spp., грамотрицательными палочками, вирусами гриппа А и В, аденовирусами, РС-вирусом, вирусами парагриппа. Однако, несмотря на внедрение в лабораторную практику широкого спектра современных диагностических методов, этиологию заболевания удается установить только в 40–60% случаев. В настоящей статье приведен анализ данных по обнаружению возбудителей внебольничных пневмоний и их маркеров в пробах клинического материала от больных, проходивших лечение в медицинских организациях г. Саратова и Саратовской области в период с июля по август 2020 г., сопряженный с увеличением количества случаев заболевания новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Клинический материал (мазки из ротоглотки, слюна, мокрота, кровь и сыворотка крови) получен от 129 больных и исследован с помощью микробиологических, иммуносерологических и молекулярно-генетических методов. Для исследований применяли транспортные и питательные среды, диагностические препараты, реагенты, диски с антибактериальными препаратами отечественного и зарубежного производства, зарегистрированные на территории Российской Федерации. В результате проведенных исследований у 82 (63,6%) пациентов выявлены маркеры возбудителя COVID-19 (вирусная РНК или специфические антитела классов IgM и/или IgG), при этом в 42% случаев отмечено совпадение результатов ОТ-ПЦР и ИФА. Отмечено преобладание доли тяжелых клинических форм заболевания в группе больных пневмониями, вызванными вирусом SARS-CoV-2 (17,1%), по сравнению с пневмониями другой этиологии (12,8%). Значительных различий в видовом составе сопутствующей микрофлоры и ее чувствительности к антибактериальным препаратам у лиц с маркерами COVID-19 и без таковых не вы-

Адрес для переписки:

Портенко Светлана Анатольевна
410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, 46,
ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.
Тел.: 8 927 223-29-92. E-mail: portenko_sa@microbe.ru

Contacts:

Svetlana A. Portenko
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46,
Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор.
Phone: +7 927 223-29-92. E-mail: portenko_sa@microbe.ru

Для цитирования:

Портенко С.А., Казакова Е.С., Найденова Е.В., Осина Н.А.,
Проскурякова М.В., Катышев А.Д., Шаркова Е.А., Кедрова О.В.,
Чумачкова Е.А., Шамьюнов М.Р., Харитонов В.Ф., Гурьева Л.А.,
Попова Н.Ю., Максимова Л.В., Бугоркова С.А., Щербакова С.А.,
Кутырев В.В. Этиологическая структура внебольничных пневмоний
в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции в Саратовской
области // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 95–104.
doi: 10.15789/2220-7619-AEO-1747

Citation:

Portenko S.A., Kazakova E.S., Naidenova E.V., Osina N.A.,
Proskuriakova M.V., Katyshov A.D., Sharkova E.A., Kedrova O.V.,
Chumachkova E.A., Shamyunov M.R., Kharitonov V.F., Gureva L.A.,
Popova N.Yu., Maksimova L.V., Bugorkova S.A., Scherbakova S.A.,
Kutyrev V.V. Etiological pattern of community-acquired pneumonia related
to the new coronavirus infection COVID-19 pandemic in the Saratov Region //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022,
vol. 12, no. 1, pp. 95–104. doi: 10.15789/2220-7619-AEO-1747

явлено. При исследовании бактериологическими методами из проб клинического материала большинства больных были выделены *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., как в монокультуре, так и в ассоциациях. В 49,6% случаев патогенная микрофлора, в том числе возбудители внебольничных пневмоний, не выявлена, что может быть обусловлено приемом антибактериальных препаратов до начала сбора материала на исследование и лечением сопутствующих хронических заболеваний.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, COVID-19, ПЦР, ОТ-ПЦР, ИФА, условно-патогенные микроорганизмы, антибактериальные препараты.

ETIOLOGICAL PATTERN OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA RELATED TO THE NEW CORONAVIRUS INFECTION COVID-19 PANDEMIC IN THE SARATOV REGION

Portenko S.A.^a, Kazakova E.S.^a, Naidenova E.V.^a, Osina N.A.^a, Proskuriakova M.V.^a, Katyshev A.D.^a, Sharkova E.A.^a, Kedrova O.V.^a, Chumachkova E.A.^a, Shamyunov M.R.^b, Kharitonova V.F.^c, Gureva L.A.^d, Popova N.Yu.^e, Maksimova L.V.^f, Bugorkova S.A.^a, Scherbakova S.A.^a, Kuttyrev V.V.^a

^a Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation

^b Saratov Polyclinic Hospital No. 5, Saratov, Russian Federation

^c Saratov Children's Infectious Clinical Hospital No. 5, Saratov, Russian Federation

^d Saratov Polyclinic No. 2, Saratov, Russian Federation

^e City Perinatal Center, Saratov, Russian Federation

^f Saratov City Clinical Hospital No. 10, Saratov, Russian Federation

Abstract. Community-acquired pneumonia is a polyetiological infectious disease of bacterial or viral nature. In most cases, it is caused by pathogens such as *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella* spp. However, despite that a wide range of modern diagnostic methods have been introduced into laboratory practice, the etiology of the disease can be determined only in 40–60% of cases. Here, we analyzed the causative agents of community-acquired pneumonia and relevant markers samples of clinical material collected from patients undergoing treatment in the medical facilities of the city of Saratov and the Saratov Region during the period from July to August, 2020, coupled to increase number of cases of new coronavirus infection COVID-19. Clinical material (oropharyngeal swabs, saliva, sputum, blood and blood serum) was obtained from 129 patients and investigated by using microbiological, immunoserological and molecular genetic methods. For this, there were used transport and nutrient media, diagnostic drugs, reagents, discs with antibacterial domestic and foreign drugs registered in the Russian Federation. As a result, 82 (63.6%) patients were found to have markers of the pathogen COVID-19 (viral RNA or specific antibodies of IgM and/or IgG classes), whereas 42% of cases had overlapped RT-PCR and ELISA data. There was a predominance of severe clinical forms of the disease in the group of patients with pneumonia caused by SARS-CoV-2 virus (17.1%), compared with pneumonia of another etiology (12.8%). No marked differences in specific pattern of the accompanying microflora and its sensitivity to antibacterial agents were observed in persons with/without markers of COVID-19. While being examined by bacteriological methods, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., both in monoculture and in associations, were isolated from samples of clinical material collected from the majority of patients. In 49.6% of cases, pathogenic microflora, including pathogens causing community-acquired pneumonia, has not been identified, which may be due to the use of antibacterial drugs before the collection of clinical material and treatment applied due to comorbid chronic diseases.

Key words: community-acquired pneumonia, COVID-19, PCR, RT-PCR, ELISA, opportunistic microorganisms, antibacterial drugs.

Введение

Внебольничные пневмонии (ВП) относятся к полиэтиологическим инфекционным заболеваниям бактериальной или вирусной природы. Наиболее часто они обусловлены *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella* spp., грамотрицательными палочками, вирусами гриппа А и В, аденовирусами, РС-вирусом, вирусами парагриппа [1]. Несмотря на широкое внедрение в лабораторную практику молекулярно-генетических и других современных методов, доля ВП установленной этиологии достигает только 40–60% [2].

В 2020–2021 гг. на фоне неблагоприятной ситуации по новой коронавирусной инфекции повсеместно отмечается подъем заболеваемости

пневмониями. По данным Роспотребнадзора, только в феврале–марте 2020 г. в каждом третьем регионе Российской Федерации, в том числе и в Саратовской области, зарегистрировано увеличение числа случаев выявления ВП более чем на 10% по сравнению со средними многолетними показателями.

Так, заболеваемость ВП в Саратовской области в 2019 г. составила 458,35 на 100 тыс. населения, причем пневмонии вирусной этиологии встречались чаще в 1,1 раза по сравнению с 2018 г. В 19,7% случаях ВП имели бактериальную этиологию. Культуры пневмококков были выделены в 2,3% от всех зарегистрированных случаев ВП и в 11,8% от случаев ВП бактериальной природы [5]. В 2020 г. в Саратовской области также было зафиксировано увеличение числа заболеваний ВП среди населения. По официальным

данным к середине октября 2020 г. в Саратовской области было зарегистрировано 23 059 случаев, из них менее половины — с установленным диагнозом «COVID-19». Показатель заболеваемости составил 952,1 на 100 тыс. населения, что превышает аналогичные данные 2019 г. в 3,2 раза. За последние пять лет наблюдалось ежегодное увеличение этого показателя (с 217,6 на 100 тыс. населения в 2016 г. до 952,1 на 100 тыс. населения в 2020 г.). Характерной чертой современного периода является резкое увеличение пневмоний вирусной этиологии по сравнению с пневмониями бактериальной этиологии. Так, в 2019 г. это соотношение составляло 1:274, а в 2020 г. на каждые пять пневмоний, вызванных вирусами, приходилась только одна пневмония, обусловленная бактериальной микрофлорой.

Цель исследования — анализ данных по определению этиологической структуры ВП и частоте выявления маркеров SARS-CoV-2 возбудителя COVID-19 (вирусной РНК или специфических антител классов IgM и/или IgG) в пробах клинического материала от больных, проходивших лечение в медицинских организациях г. Саратова и Саратовской области в период распространения в регионе новой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы

Исследования проведены сотрудниками ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора при участии коллег из медицинских учреждений г. Саратова и Саратовской области. Группы пациентов для проведения исследований формировали с учетом степени тяжести заболевания. Обязательным условием при проведении работы было наличие подписанного добровольного информированного согласия участников, а для лиц, не достигших 18 лет, — одного из родителей или иного законного представителя.

Изучали следующие виды клинического материала: объединенный мазок из носоглотки и задней стенки глотки в транспортной среде, слюна — методом полимеразной цепной реакции (ПЦР и/или ОТ-ПЦР); мазок с задней стенки глотки в транспортной среде Эймса и/или мокрота — бактериологическим методом; сыворотка крови — методом иммуноферментного анализа (ИФА). На всех этапах исследования было обеспечено соблюдение правил биологической безопасности в соответствии с требованиями нормативной документации, регламентирующими данные виды работы.

Для исследований применяли транспортные среды, диагностические препараты, реагенты, питательные среды и диски с антибактериальными препаратами (АБП) отечественного и зарубежного производства, зарегистрированные в установленном порядке на территории Российской Федерации. Перечень диагностических препаратов, использованных в работе, указан

в табл. 1. Бактериологические исследования проводили с использованием анализаторов BIOMIC V3 (Giles Scientific, США), VITEK® 2 Compact (bioMérieux, Франция) и масс-спектрометра Microflex™ LT (Bruker Daltonics, Великобритания).

Результаты

В период с 23 июня по 1 сентября 2020 г. проводили исследования проб клинического материала (мазков из носоглотки и задней стенки глотки, мокроты, слюны, сыворотки крови) от 129 человек с клиническим диагнозом «внебольничная пневмония» с использованием методов ПЦР, ОТ-ПЦР, ИФА и бактериологического анализа. В исследовании приняли участие 107 взрослых (82,9% от всех обследованных) и 22 ребенка в возрасте до 18 лет (17,1%).

На первом этапе для выявления маркеров вируса SARS-CoV-2 (РНК и/или специфических антител к возбудителю) пробы клинического материала тестировали методами ОТ-ПЦР и ИФА. При исследовании объединенных мазков из носоглотки и задней стенки глотки и образцов слюны положительные результаты ОТ-ПЦР зарегистрированы у 71 человека (55,0% от всех обследованных лиц), в том числе у 3 детей. Методом ИФА антитела к возбудителю COVID-19 выявлены в сыворотке крови 45 пациентов (35% от общего числа больных). Антитела класса IgM к вирусу SARS-CoV-2 обнаружены в 10 случаях, IgM и IgG — в 29 и только IgG — в 6 случаях. У 34 больных (26,4%) регистрировали как антитела к возбудителю COVID-19, так и РНК вируса. Всего методами ОТ-ПЦР и ИФА в пробах клинического материала у 82 (63,6%) из 129 больных определены маркеры возбудителя COVID-19 (ВП COVID-19⁺), причем РНК нового коронавируса выявлялась в 1,6 раза чаще, чем специфические антитела. Совпадение результатов, полученных с использованием обоих методов, наблюдалось в 42% случаев (рис. 1). У 47 пациентов (36,4%) маркеры возбудителя COVID-19 обнаружены не были (ВП COVID-19⁻).

При анализе тяжести состояния 82 больных ВП COVID-19⁺ отмечено преобладание среднетяжелых форм (73,1% случаев), реже регистрировали тяжелые (17,1%) и легкие (9,8%) формы заболевания. Половина пациентов с тяжелой формой заболевания (10 человек) — это лица старше 65 лет, что согласуется с международным опытом [13]. Среди 49 пациентов ВП COVID-19⁻ наиболее часто отмечали клинические проявления средней степени тяжести (68,1%), с меньшей частотой — легкие формы (19,1% случаев). В шести случаях (12,8%) наблюдалось тяжелое течение инфекционного процесса, осложненное сопутствующими хроническими заболеваниями (рис. 2).

С помощью молекулярно-генетического и бактериологического методов в клиническом мате-

Таблица 1. Перечень диагностических препаратов, использованных в работе

Table 1. List of diagnostic drugs used in the study

Наименование/Name	Производитель/Manufacturer
Исследования методами ПЦР и ОТ-ПЦР/Examined by PCR and RT-PCR	
«Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» Transport medium for storage and transportation of respiratory smears	ООО «ИЛС», Россия, ФСР 2009/05011 от 09.04.2019 InterLabService Ltd., Russia
«РИБО-преп» RIBO-prep	ООО «ИЛС», Россия, ФСР 2008/03147 от 22.02.2019 InterLabService Ltd., Russia
«Реверта-L» Reverta-L	ООО «ИЛС», Россия, ФСР 2008/03994 InterLabService Ltd., Russia
«Вектор-ПЦРrv-2019-пCoV-RG» Vektor-PTsR-RV-2019-nCoV-RG	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, РЗН 2020/9677 от 11.02.2020 State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR of Rospotrebnadzor
«ПЦР-РВ-2019-пCoV» PTsR-RV-2019-nCoV	ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Россия, РЗН 2020/9969 от 03.04.2020 48 Central Research Institute of the Ministry of Defense of Russia, Russia
«АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL» AmpliSens® Influenza virus A/B-FL	ООО «ИЛС», Россия, ФСР 2009/05010 от 21.02.2019 InterLabService Ltd., Russia
«АмплиСенс-ОРВИ-скрин-Fl» AmpliSens-ARVI-screen-Fl	ООО «ИЛС», Россия InterLabService Ltd., Russia
«АмплиСенс® Legionella pneumophila-FL» AmpliSens® Legionella pneumophila-FL	ООО «ИЛС», Россия, ФСР 2010/07097 от 18.11.2011 InterLabService Ltd., Russia
«АмплиСенс® Mycoplasma pneumoniae/Chlamydia pneumoniae-FL» AmpliSens® Mycoplasma pneumoniae/Chlamydia pneumoniae-FL	ООО «ИЛС», Россия InterLabService Ltd., Russia
Исследования методом ИФА/Examined by ELISA	
VACUETTE, пробирки с активатором свертывания крови VACUETTE blood clotting activator tubes	Greiner Bio-One, Австрия, ФСЗ 2011/09314 от 09.03.2021 Greiner Bio-One, Austria
«SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» SARS-CoV-2-IgG-IFA-BEST	АО «Вектор-Бест», Россия, РЗН 2020/10388 от 18.05.2020 Vector Best JSC, Russia
«SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» SARS-CoV-2-IgM-IFA-BEST	АО «Вектор-Бест», Россия, РЗН 2020/10388 от 18.05.2020 Vector Best JSC, Russia
Исследование бактериологическим методом/Examined by bacteriological method	
Тампон (сваб) с транспортной средой Amies Tampon (swab) with transport medium Amies	Аптаса, Италия Aptaca, Italy
Агар Клигlera-ГРМ Kligler Agar	ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия, ФСР 2007/00968 от 13.10.2011 State Research Center for Applied Microbiology, Russia
Агар Эндо-ГРМ Endo Agar	ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия, ФСР 2007/00375 от 13.10.2011 State Research Center for Applied Microbiology, Russia
Энтерококкагар Enterococcus Agar	ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия, ФСР 2011/10008 от 13.10.2011 State Research Center for Applied Microbiology, Russia
Сабуро-Мальтоза агар Saburo Maltose Agar	ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия, ФСР 2009/05625 от 08.09.2009 State Research Center for Applied Microbiology, Russia
Стафилококкагар Staphylococcus Agar	ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия, ФСР 2011/10007 от 13.10.2011 State Research Center for Applied Microbiology, Russia
Набор для приготовления шоколадного агара Chocolate Agar Kit	HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия, ФСЗ 2009/03706 от 13.12.2012 HiMedia Laboratories Pvt Ltd., India
Эмульсия яичного желтка Egg yolk emulsion	HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия, ФСЗ 2009/03708 от 13.12.2012 HiMedia Laboratories Pvt Ltd., India
Агар Мюллера–Хинтон № 2 Mueller–Hinton Agar No. 2	HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия, ФСЗ 2009/03707 от 13.12.2012 HiMedia Laboratories Pvt Ltd., India

Наименование/Name	Производитель/Manufacturer
Исследование бактериологическим методом/Examined by bacteriological method	
Основа ХайХром селективного агара для грибов <i>Candida</i>, модифицированная для дифференциации, с добавкой HaiChrome Base Selective Agar for <i>Candida</i> fungi, modified for differentiation, with additive	HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия, ФСЗ 2009/03705 от 21.12.2012 HiMedia Laboratories Pvt Ltd., India
Диски с желчью для идентификации пневмококков Bile discs for identifying pneumococci	ЗАО «НИЦФ», Россия, ФСР2009/06472 от 09.02.2016 Research Center of Pharmacotherapy CJSC, Russia
Диски с оптохином для идентификации пневмококков Optochin discs for identifying pneumococci	ЗАО «НИЦФ», Россия, ФСР 2009/06472 от 09.02.2016 Research Center of Pharmacotherapy CJSC, Russia
Набор Wellcogen на менингококковые инфекции Wellcogen Kit for meningococcal infections	Thermo Fisher Scientific, Великобритания Thermo Fisher Scientific, UK
Диски для определения антимикробной чувствительности Antimicrobial sensitivity discs	Oxoid, Великобритания; BIOANALYSE, Турция, МЗ ФСЗ 2011/09556 от 18.04.2011 Oxoid, UK; BIOANALYSE, Turkey
Наборы для идентификации api: api 10 S и api 20 E (<i>Enterobacteriaceae</i> и других неприхотливых грамотрицательных палочек); api 20 NE (неприхотливых грамотрицательных аэробных/микроаэробных палочек); api Staph (стафилококков, микрококков и родственных микроорганизмов); api 20 STREP (<i>Streptococcaceae</i> и родственных микроорганизмов); api NH (бактерий родов <i>Neisseria</i> и <i>Haemophilus</i>) Api identification sets: api 10 S and api 20 E (<i>Enterobacteriaceae</i> and other non-fastidious gram-negative sticks); NE api 20 (non-fastidious gram-negative aerobic/microaerobic sticks); api Staph (staphylococci, micrococci and related microorganisms); api 20 STREP (<i>Streptococcaceae</i> and related microorganisms); api NH (bacteria of the genera <i>Neisseria</i> and <i>Haemophilus</i>)	bioMerieux, Франция, ФСЗ 2011/10309 от 02.08.2011 bioMerieux, France
Карты для идентификации Vitek: GN (клинически значимых грамотрицательных палочек); GP (энтерококков, стрептококков, стафилококков и других грамположительных микроорганизмов); NH (клинически значимых прихотливых микроорганизмов) Vitek Identification Cards: GN (clinically significant Gram-negative sticks); GP (enterococci, streptococci, staphylococci and other gram-positive microorganisms); NH (clinically significant non-fastidious microorganisms)	bioMerieux, Франция, ФСЗ 2010/08216 от 02.11.2010 bioMerieux, France

риале от больных ВП COVID-19⁺ в 41 пробе выявлены культуры и маркеры условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), способные вызывать пневмонию. Все изученные образцы также были контаминированы сопутствующей микрофлорой, включающей представителей нормальной микрофлоры ротовой полости человека (табл. 2).

При определении чувствительности 13 выделенных культур *Staphylococcus aureus* к антибактериальным препаратам у одного из штаммов выявлена множественная устойчивость к пенициллинам, цефалоспорином I–II поколений и фторхинолонам II поколения; у двух штаммов — устойчивость к бета-лактамам препаратам I–II поколений и нитрофурантоину; у одного — к пенициллинам и цефалоспорином I–II поколений; два штамма были устойчивы к пенициллину и один — к макролидам.

Из 16 культур рода *Acinetobacter* у восьми штаммов выявлена резистентность к различным сочетаниям АБП, у трех — ко всем использованным. Четыре культуры показали устойчивость к разным комбинациям АБП: к азтреонаму и гентамицину; к пенициллинам, азтреонаму и цiproфлоксацину; к аминогликозидам, азтреонаму и цiproфлоксацину; к пенициллинам, цефалоспорином и азтреонаму. Один из штаммов обладал устойчивостью к азтреонаму.

Из 11 штаммов *Klebsiella pneumoniae* один обладал полирезистентностью к АБП, один был устойчив к бета-лактамам антибиотикам. Выделенная культура *Klebsiella oxytoca* характеризовалась устойчивостью к пенициллинам и цефалоспорином.

Из 4 штаммов *Streptococcus pneumoniae* у одного выявлена множественная устойчивость к пени-

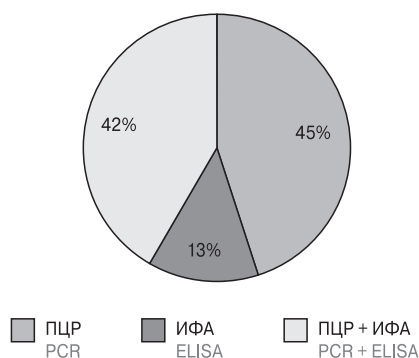


Рисунок 1. Маркеры возбудителя COVID-19, выявляемые методами ПЦР и ИФА

Figure 1. Markers of the COVID-19 pathogen detected by RT-PCR and ELISA

циллину, аминогликозидам, макролидам и доксициклину; у одного — к пенициллину, макролидам и доксициклину и у одного — к оксациллину.

От больного с тяжелой формой ВП и сопутствующими заболеваниями выделена культура *Enterobacter cloacae*, чувствительная только к меропенему. У культур *Pseudomonas aeruginosa* выявлена устойчивость к пенициллинам, цефалоспорином, хлорамфениколу, у культуры *Stenotrophomonas maltophilia* — устойчивость к бета-лактамам и цефалоспорином. Среди сопутствующей микрофлоры наиболее часто выявлялись α -гемолитические стрептококки, представители рода *Streptococcus* 7 видов: *anginosus*, *australis*, *mitis*, *oralis*, *parasanguinis*, *salivarius*, *vestibularis*. Из 39 образцов выделены грибы рода *Candida* трех видов: *albicans*, *dubliniensis*, *kefyr*.

С целью установления возможного этиологического фактора ВП COVID-19⁻ проведены ис-



Рисунок 2. Сравнительный анализ форм заболеваний ВП COVID-19⁺ и COVID-19⁻

Figure 2. Comparative analysis of the forms CAP COVID-19⁺ and CAP COVID-19⁻

следования по выявлению маркеров острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) и возбудителей пневмоний *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Legionella pneumophila* методом ПЦР, ОТ-ПЦР и бактериологического анализа (табл. 2).

Микроорганизмы, способные вызывать пневмонию, обнаружены в материале от 24 лиц (51,0%) с ВП COVID-19⁻. У выделенных культур УПМ, способных вызывать пневмонии, была изучена чувствительность к АБП следующих классов: бета-лактамы, карбапенемы, аминогликозиды, сульфаниламиды, фторхинолоны, тетрациклины, нитрофураны, хлорамфеникол, фосфомицин, оксазолидинон.

Культуры *S. aureus* изолированы от 10 лиц, при этом у трех больных из этой группы отмечалась тяжелая форма ВП, осложненная сопутствующими заболеваниями, у четырех — средней тяжести и у трех — легкая форма. В четырех случаях из десяти в исследуемом материале присутствовал *S. aureus* в ассоциации с бактериями *E. asburiae* и *E. cloacae*, *S. pneumoniae*, *P. mirabilis*, а также метапневмо- и риновирусами. Для 4 изолятов золотистого стафилококка отмечена резистентность к бета-лактамам антибиотикам I–II поколений, для одного из них — дополнительно к азитромицину и хлорамфениколу.

K. pneumoniae выделена от 4 лиц, у двух из них отмечалась тяжелая форма ВП на фоне сопутствующих хронических заболеваний. В двух случаях *K. pneumoniae* выделена в ассоциации с *S. aureus* или *A. baumannii*. Из 4 штаммов *K. pneumoniae* один был резистентным к бета-лактамам, цефалоспорином I–II поколений и фторхинолонам, еще у одного отмечалась множественная устойчивость к АБП.

Культуры *S. pneumoniae* выделены из материала от 4 человек. Микроорганизмы присутствовали в исследуемом материале как монокультура, так и в ассоциациях с другими бактериями. Во всех случаях культуры обладали устойчивостью к пенициллину.

Штаммы рода *Acinetobacter* выделены от 4 человек. От больного с тяжелой формой пневмонии и сопутствующими заболеваниями выделена ассоциация бактерий *A. baumannii* и *R. ornithinolytica*, причем оба изолята были резистентны ко всем бета-лактамам антибиотикам, включая цефалоспорины III–IV поколений, в том числе ингибитор-защищенные. Также была выявлена полирезистентность у одного штамма *A. johnsonii*, и еще один изолят был устойчив к бета-лактамам, в том числе цефалоспорином III–IV поколений.

Из клинического материала от детей 2014 и 2018 г. рождения со среднетяжелой формой ВП выделены ассоциации грамотрицательных бактерий: *R. ornithinolytica*/*E. cloacae* и *A. pittii*/*E. asburiae*. При тестировании к АБП у *R. ornithinolytica*, *E. cloacae* и *A. pittii* обнаружена множественная лекарственная устойчивость.

Таблица 2. Видовой состав микроорганизмов, выделенных из проб биологического материала от 82 человек с ВП COVID-19⁺ и от 47 человек с ВП COVID-19⁻Table 2. Microbial species composition identified in samples of biological material collected from 82 subjects with CAP COVID-19⁺ and 47 subjects with CAP COVID-19⁻

№ п/п No. in order	Виды микроорганизмов Types of microorganisms	Количество выделенных культур микроорганизмов Number of isolated microbial cultures	
		От лиц с COVID-19 ⁺ From individuals with COVID-19 ⁺	От лиц с COVID-19 ⁻ From individuals with COVID-19 ⁻
Микроорганизмы, способные вызывать пневмонию Microorganisms able to cause pneumonia			
1	<i>M. pneumoniae</i> *	1	3
2	<i>C. pneumoniae</i> *	0	0
3	<i>L. pneumophila</i> *	0	0
4	Метапневмовирус* Metapneumovirus*	1	1
5	<i>S. aureus</i>	13	10
6	<i>S. pneumoniae</i>	4	4
7	<i>K. pneumoniae</i>	11	4
8	<i>Acinetobacter (baumannii, johnsonii, lwoffii)</i>	16	4
9	<i>P. aeruginosa</i>	3	1
10	Лактозонегативные гемолитические <i>E. coli</i> Lactose-negative hemolytic <i>E. coli</i>	1	1
11	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	
12	<i>R. mucilaginosa</i>	0	1
13	<i>S. marcescens</i>	2	1
14	<i>Enterobacter (asburiae, bugandensis, cloacae)</i>	4	2
Возбудители респираторных инфекций Pathogens of respiratory infections			
1	Респираторно-синцитиальный вирус* Respiratory syncytial virus	0	0
2	Вирусы парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов* Parainfluenza viruses of types 1, 2, 3 and 4*	2	2
3	Коронавирусы* Coronaviruses*	0	0
4	Риновирусы* Rhinoviruses*	0	0
5	Аденовирусы групп В, С и Е* Group B, C, and E adenoviruses*	0	0
6	Бокавирус* Bokavirus*	0	0
7	<i>R. ornithinolytica</i>	1	1
Сопутствующая микрофлора Concomitant microflora			
1	α-гемолитические стрептококки α-hemolytic streptococci	57	39
2	<i>Lactobacillus (harbinensis, lactis, paracasei)</i>	5	5
3	<i>P. mirabilis</i>	8	1
4	<i>E. faecalis</i>	7	2
5	<i>N. macacaе, N. subflava</i>	1	3
6	<i>Candida (albicans, dubliniensis, kefyr)</i>	30	25

Примечание. * — выявлены фрагменты нуклеиновых кислот указанных микроорганизмов методом ПЦР.
Note. * — fragments of nucleic acids derived from examined microorganisms were detected by PCR.

Также множественная устойчивость к АБП выявлена у культур *S. marcescens* (к пенициллинам, цефалоспорином, фторхинолонам, хлорамфениколу), *P. aeruginosa* (к пенициллинам, цефалоспорином, меропенему, азтреонаму, хлорамфениколу), гемолитических *E. coli* (к пенициллинам, цефалоспорином, аминогликозидам, азтреонаму).

Сопутствующая микрофлора в основном представлена α -гемолитическими *Streptococcus* (*anginosus*, *australis*, *mitis*, *oralis*, *parasanguinis*, *salivarius*, *vestibularis*), всего выделено 39 штаммов.

В 23 случаях (49%) патогенная микрофлора, в том числе возбудители ВП, не выявлены, в 28 случаях отмечен прием АБП до начала сбора материала, что могло вызвать затруднения при выделении культур микроорганизмов из исследуемого материала.

Обсуждение

Сравнительный анализ результатов исследований видового состава микрофлоры и чувствительности ее к АБП в материале от больных ВП COVID-19⁺ и больных ВП COVID-19⁻ различий не выявил. УПМ, способная вызывать инфекционные заболевания, в том числе пневмонии, обнаружена у 50% больных COVID-19⁺ и у 51% больных ВП COVID-19⁻. Полирезистентные и резистентные к отдельным группам АБП штаммы микроорганизмов выделены как от больных ВП COVID-19⁺, так и от больных ВП COVID-19⁻ (рис. 3).

Полученные результаты по изучению видового состава микрофлоры в клиническом материале от 129 больных ВП жителей г. Саратова и Саратовской области коррелируют с данными публикаций отечественных и зарубежных авторов [1, 3, 4].

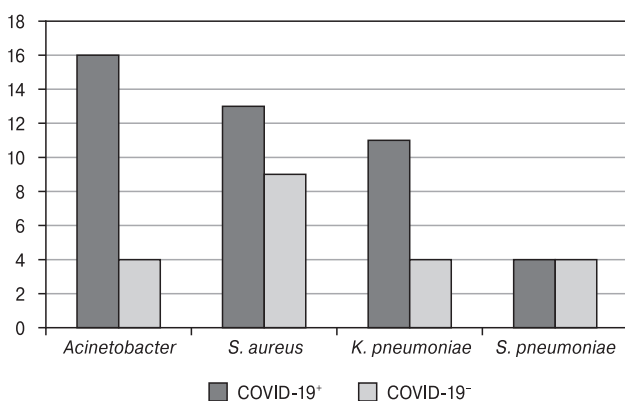


Рисунок 3. Количество резистентных штаммов, выделенных от больных ВП COVID-19⁺ и пневмонией неустановленной этиологии

Figure 3. The number of resistant strains isolated from patients with CAP COVID-19⁺ and CAP of unidentified etiology

Результаты изучения чувствительности выделенных микроорганизмов к АБП также согласуются с литературными данными. Так, для культур *S. aureus*, выделенных из респираторных образцов, характерна устойчивость к β -лактамам антибиотикам (26%), аминогликозидам (33%) и фторхинолонам (18%) [12]. Доля пневмококков со сниженной чувствительностью к пенициллину варьирует от 3 до 24% в России, за рубежом достигает 33% [6, 8]. Грамотрицательные бактерии выявляются у 20% пациентов с внебольничной пневмонией и в 50% — с внутрибольничной пневмонией. Сообщается о циркуляции в Европе устойчивых штаммов *P. aeruginosa*, в то время как в Азиатско-Тихоокеанском регионе наиболее часто выявляют резистентные штаммы *K. pneumoniae* и *E. coli* [10]. Для штаммов *A. baumannii* отмечена устойчивость к карбапенемам и множественная лекарственная устойчивость в 80 и 90% случаев соответственно [9]. Очевидно, что изоляция возбудителей пневмоний с последующим определением их чувствительности к антибиотикам помогает избежать чрезмерного использования препаратов широкого спектра действия, способствующих селекции устойчивых штаммов [7].

Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований клинического материала от 129 больных с клиническим диагнозом «ВП», проживающих на территории г. Саратова и Саратовской области, методами ОТ-ПЦР и ИФА у 82 (63,6%) выявлены маркеры вируса SARS-CoV-2, у 47 (36,4%) человек маркеры возбудителя COVID-19 не обнаружены. Совпадение результатов, полученных методом ОТ-ПЦР (выявление РНК) и ИФА (выявление иммуноглобулинов классов IgM и IgG), наблюдалось в 42% случаев. Отмечено преобладание доли тяжелых клинических форм заболевания в группе больных пневмониями, вызванными вирусом SARS-CoV-2 (17,1%), по сравнению с пневмониями другой этиологии (12,8%). Доля среднетяжелой формы пневмонии в группах пациентов COVID-19⁺ и COVID-19⁻ составила 73,1 и 68,1% случаев соответственно.

Значительных различий видового состава микроорганизмов и их чувствительности к АБП у исследуемых групп больных с ВП COVID-19⁺ и ВП COVID-19⁻ не выявлено. У 24 лиц (51,0%) с ВП COVID-19⁻ и у 41 (50%) с ВП COVID-19⁺ выявлены следующие возбудители: *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., как в монокультуре, так и в ассоциациях. Все культуры *S. pneumoniae* обладали устойчивостью к пенициллину. В 64 случаях (49,6%) патогенная микрофлора, в том числе возбудители ВП, не выявлена, что может быть обусловлено приемом АБП до начала сбора материала на исследование и лечением имеющихся

сопутствующих хронических заболеваний. Полирезистентные и резистентные к отдельным группам АБП штаммы микроорганизмов выделены как от больных COVID-19⁺, так и от больных COVID-19⁻.

Благодарности

Авторский коллектив выражает свою благодарность за помощь в сборе образцов клинического материала руководителю Управления Роспотребнадзора по Саратовской области О.И. Кожановой и специалистам управления; министру здравоохранения Саратовской области О.Н. Костину и специалистам Министерства; главным врачам и коллективам медицинских организаций г. Саратова и Саратовской области: ГУЗ Областная клиническая больница, ГУЗ Перинатальный центр, ГУЗ Областная

детская инфекционная клиническая больница им. Н.Р. Иванова, ГУЗ Саратовская детская инфекционная клиническая больница № 5, ГУЗ Саратовская городская клиническая больница № 1 им. Ю.Я. Гордеева, Клиническая больница им. С.Р. Миротворцева СГМУ, ГУЗ Саратовская городская клиническая больница № 5, ГУЗ Саратовская городская клиническая больница № 10, ГУЗ Саратовская городская поликлиника № 2, ГУЗ Саратовская городская поликлиника № 16, ГУЗ Саратовская городская поликлиника № 20, ГУЗ Энгельсская городская поликлиника № 2.

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы/References

1. Бондаренко А.П., Шмыленко В.А., Троценко О.Е., Котова В.О., Бутакова Л.В., Базыкина Е.А. Характеристика бактериальной микрофлоры, выделенной из клинических проб мокроты больных пневмонией, зарегистрированных в Хабаровске и Хабаровском крае в начальный период пандемии коронавируса в мае–июне 2020 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. Т. 3. С. 43–49. [Bondarenko A.P., Shmylenko V.A., Trotsenko O.E., Kotova V.O., Butakova L.V., Bazykina E.A. Characteristics of bacterial microflora isolated from clinical sputum samples of patients with pneumonia registered in Khabarovsk and the Khabarovsk Territory during the initial period of the coronavirus pandemic in May–June 2020. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, vol. 3, pp. 43–49. (In Russ.)] doi: 10.21055/preprints-3111767
2. Зырянов С.К., Ченкуров М.С., Ивжиц М.А., Батечко Ю.А., Иванова Е.Б., Якунина М.А. Исследование структуры сопутствующих заболеваний и этиологии внебольничной пневмонии у пациентов пожилого и старческого возраста // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 3. С. 242–248. [Zyryanov S.K., Chenkurov M.S., Ivzhits M.A., Batechko Yu.A., Ivanova E.B., Yakunina M.A. Etiology of community-acquired pneumonia and prevalence of comorbidities in elderly patient population. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, vol. 22, no. 3, pp. 242–248. (In Russ.)] doi: 10.36488/emac.2020.3.242-248
3. Катаева Л.В., Степанова Т.Ф., Степанова К.Б., Бакштановская И.В., Посоюзных О.В., Ташланова В.В., Карпукхина Н.Ф., Колоотова О.Н., Калашникова Ю.Н., Вакарина А.А. Микробиоценоз нижних дыхательных путей при пневмонии, ассоциированной с SARS-COV-2 [препринт] // Covid-19 Preprints. 2020. [Kataeva L.V., Stepanova T.F., Stepanova K.B., Vakshtanovskaya I.V., Posoyuznykh O.V., Tashlanova V.V., Karpukhina N.F., Kolotova O.N., Kalashnikova Yu.N., Vakarina A.A. Microbiocenosis of the lower respiratory tract in SARS-COV-2-associated pneumonia [preprint]. *Covid-19 Preprints*. 2020. (In Russ.)] doi: 10.21055/preprints-3111755
4. Мелехина Е.В., Музыка А.Д., Николаева С.В., Горелов А.В., Усенко Д.В., Понежева Ж.Б. Сочетанные респираторные инфекции в период пандемии COVID-19. [препринт] // Covid-19 Preprints. 2020. [Melekhina E.V., Muzyka A.D., Nikolaeva S.V., Gorelov A.V., Usenko D.V., Ponezheva Zh.B. Combined respiratory infections during the COVID-19 pandemic [preprint]. *Covid-19 Preprints*. 2020. (In Russ.)] doi: 10.21055/preprints-3111764
5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году по Саратовской области: материалы государственного доклада. Роспотребнадзор: Саратов, 2020. 281 с. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2019 for the Saratov Region: materials of the state report. *Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing: Saratov*, 2020. 281 p. (In Russ.)]
6. Савинова Т.А., Ильина Е.Н., Сидоренко С.В. Перспективы применения антипневмококковой вакцинации для сдерживания распространения антибактериальной резистентности среди пневмококков // Антибиотики и химиотерапия. 2011. Т. 56. С. 5–6. [Savinova T.A., Ilina E.N., Sidorenko S.V. Prospects for the use of anti-pneumococcal vaccination to curb the spread of antibacterial resistance among pneumococci. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2011, vol. 56, pp. 5–6. (In Russ.)]
7. Cillóniz C., Dominedò C., Torres A. Multidrug resistant gram-negative bacteria in community-acquired pneumonia. *Crit. Care*, 2019, vol. 23: 79. doi: 10.1186/s13054-019-2371-3
8. Hackel M., Lascols C., Bouchillon S., Hilton B., Morgenstern D., Purdy J. Serotype prevalence and antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates among global populations. *Vaccine*, 2013, vol. 31, pp. 4881–4887. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.07.054
9. Quoc C.H., Phuong T.N.T., Duc H.N., Le T.T., Thu H.T.T., Tuan S.N., Trong L.P. Carbapenemase genes and multidrug resistance of *Acinetobacter baumannii*: a cross sectional study of patients with pneumonia in Southern Vietnam. *Antibiotics (Basel)*, 2019, vol. 8, no. 3: 148. doi: 10.3390/antibiotics8030148

10. Rodrigo T.A., Sibila O. The respiratory threat posed by multidrug resistant gramnegative bacteria invited review series: respiratory infections in the Asia-Pacific Region. *Respirology*, vol. 22, pp. 1288–1299. doi: 10.1111/resp.13115
11. Song J.H., Huh K., Chung D.R. Community-acquired pneumonia in the Asia-Pacific Region. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2016, vol. 37, no. 6, pp. 839–854. doi: 10.1055/s-0036-1592075
12. Wang L.M., Qiao X.L., Ai L., Zhai J.J., Wang X.X. Isolation of antimicrobial resistant bacteria in upper respiratory tract infections of patients. *3 Biotech*, 2016, vol. 6, no. 2: 166. doi: 10.1007/s13205-016-0473-z
13. Zhou Y., Guo S., He Y., Zuo Q., Liu D., Xiao M., Fan J., Li X. COVID-19 is distinct from SARS-CoV-2-negative community-acquired pneumonia. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2020, vol. 10: 322. doi: 10.3389/fcimb.2020.00322

Авторы:

Портенко С.А., к.б.н., зав. отделом диагностики инфекционных болезней ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Казакова Е.С., к.б.н., главный научный сотрудник отдела диагностики инфекционных болезней ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Найденова Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник отдела диагностики инфекционных болезней ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Осина Н.А., к.б.н., зав. отделом микробиологии ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Проскурякова М.В., научный сотрудник отдела диагностики инфекционных болезней ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Катышев А.Д., младший научный сотрудник отдела микробиологии ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Шаркова Е.А., младший научный сотрудник отдела диагностики инфекционных болезней ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Кедрова О.В., к.м.н., ученый секретарь ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Чумачкова Е.А., научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Шамьонов М.Р., к.м.н., главный врач ГУЗ Саратовская городская клиническая больница № 5, г. Саратов, Россия;

Харитонов В.Ф., к.м.н., главный врач ГУЗ Саратовская детская инфекционная клиническая больница № 5, г. Саратов, Россия;

Гурьева Л.А., главный врач ГУЗ Саратовская городская поликлиника № 2, г. Саратов, Россия;

Попова Н.Ю., к.м.н., главный врач ГУЗ Перинатальный центр, г. Саратов, Россия;

Максимова Л.В., к.м.н., главный врач ГУЗ Саратовская городская клиническая больница № 10, г. Саратов, Россия;

Бугоркова С.А., д.м.н., зав. отделом иммунологии ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

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

Кутырев В.В., д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия.

Authors:

Portenko S.A., PhD (Biology), Head of the Department of Infectious Diseases Diagnostics, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Kazakova E.S., PhD (Biology), Head Researcher, Department of Infectious Diseases Diagnostics, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Naidenova E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Infectious Diseases Diagnostics, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Osina N.A., PhD (Biology), Head of the Microbiology Department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Proskuriakova M.V., Researcher, Department of Infectious Diseases Diagnostics, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Katyshev A.D., Junior Researcher, Microbiology Department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Sharkova E.A., Junior Researcher, Department of Infectious Diseases Diagnostics, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Kedrova O.V., PhD (Medicine), Academic Secretary, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Chumachkova E.A., Researcher, Epidemiology Department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Shamyunov M.R., PhD (Medicine), Head Physician, Saratov Polyclinic Hospital No. 5, Saratov, Russian Federation;

Kharitonova V.F., PhD (Medicine), Head Physician, Saratov Children's Infectious Clinical Hospital No. 5, Saratov, Russian Federation;

Gureva L.A., Head Physician, Saratov Polyclinic No. 2, Saratov, Russian Federation;

Popova N.Yu., PhD (Medicine), Head Physician, City Perinatal Center, Saratov, Russian Federation;

Maksimova L.V., PhD (Medicine), Head Physician, Saratov City Clinical Hospital No. 10, Saratov, Russian Federation;

Bugorkova S.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Immunology Department, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Scherbakova S.A., PhD, MD (Biology), Deputy Director for Scientific and Experimental Work, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;

Kutyrev V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, RAS Full Member, Director of the Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation.

ВЫЯВЛЕНИЕ СЛУЧАЕВ КОРИ ВО ВЬЕТНАМЕ В ПЕРИОД РАСПРОСТРАНЕНИЯ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

И.Н. Лаврентьева¹, М. Хоанг², А.Ю. Антипова¹, М.А. Бичурина¹, Арег А. Тотолян¹

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

² Института имени Пастера в г. Хошимин, г. Хошимин, Вьетнам

Резюме. Введение. Согласно стратегическому плану ВОЗ, к 2020 г. пять из шести географических регионов должны были достигнуть элиминации кори. Западно-Тихоокеанский регион (ЗТР), включающий Социалистическую Республику Вьетнам (СРВ), входит в их число. В 2019 г. во Вьетнаме было выявлено 14 156 случаев кори, что существенно превышает уровень, необходимый для достижения элиминации (менее 1 случая на 1 млн населения). Анализ причин продолжающейся циркуляции вируса кори в разных регионах мира представляется весьма важным. Важно также оценить возможное влияние на заболеваемость корью противоэпидемических мер, направленных на борьбу с пандемией COVID-19. Данное исследование посвящено выявлению случаев кори в Южном Вьетнаме с января 2020 по март 2021 г. **Материалы и методы.** На IgM-антитела к вирусу кори было исследовано 799 образцов сывороток крови, полученных с разных территорий Южного Вьетнама в 2020–2021 гг. Использовали тест-систему Anti-Measles Virus ELISA (IgM) (Euroimmun, Германия). Наличие в сыворотке крови IgM-антител к вирусу кори оценивали как острую коревую инфекцию. **Результаты.** Вирус кори активно циркулировал в Южном Вьетнаме в первые месяцы 2020 года. В эпидемический процесс преимущественно были вовлечены жители крупных городов и промышленных центров. Корь распространялась в основном среди непривитых (71,58%) или не имеющих сведений о прививках (25,48%), но среди заболевших были и вакцинированные (2,12%), и ревакцинированные (0,64%) лица. Абсолютное большинство заболевших (71%) — дети в возрасте до трех лет, с преобладанием детей первого года жизни. Среди последних 48% составили дети 7–9 месяцев. В марте–апреле 2020 г. отмечено резкое снижение количества случаев кори в Южном Вьетнаме, до спорадического уровня (с мая 2020 до марта 2021 г.). Это связано, по-видимому, с противоэпидемическими мероприятиями, которые проводились в СРВ с целью ограничения распространения COVID-19. Следовательно, после снятия ограничений можно ожидать повышения заболеваемости корью в СРВ.

Ключевые слова: Южный Вьетнам, корь, возрастные группы, пандемия, COVID-19.

REVEALING MEASLES CASES IN VIETNAM DURING THE SPREAD OF A NEW CORONAVIRUS INFECTION

Lavrentieva I.N.^a, Hoang M.^b, Antipova A.Yu.^a, Bichurina M.A.^a, Totolian Areg A.^a

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

^b Ho Chi Minh Pasteur Institute, Ho Chi Minh City, Vietnam

Abstract. Introduction. According to the WHO Strategic Plan, five out of six geographical regions were expected to achieve measles elimination by 2020, among which is the Western Pacific Region (WPR), which includes the Social-

Адрес для переписки:

Лаврентьева Ирина Николаевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. 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

Для цитирования:

Лаврентьева И.Н., Хоанг М., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Тотолян Арег А.
Выявление случаев кори во Вьетнаме в период распространения новой
коронавирусной инфекции // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1.
С. 105–112. doi: 10.15789/2220-7619-RMC-1806

Citation:

Lavrentieva I.N., Hoang M., Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Totolian Areg A.
Revealing measles cases in Vietnam during the spread of a new coronavirus
infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet,
2022, vol. 12, no. 1, pp. 105–112. doi: 10.15789/2220-7619-RMC-1806

ist Republic of Vietnam (VNM). In 2019, 14 156 measles cases were detected in Vietnam, which significantly exceeds the level required to achieve its elimination (less than 1 case per 1 million population). Analyzing the causes of the ongoing measles virus circulation in diverse global regions is very important. It is also important to assess a potential impact on the measles incidence due to anti-epidemic measures aimed at combating the COVID-19 pandemic. This research is devoted to revelation measles cases in South Vietnam within the period covering January 2020 to March 2021. *Materials and methods.* 799 samples of blood sera obtained from different territories of South Vietnam in 2020–2021 were examined for IgM antibodies against measles virus using the Anti-Measles Virus ELISA (IgM) test system (Euroimmun, Germany). The presence of IgM measles virus antibodies in the blood serum was assessed as an acute measles infection. *Results.* The measles virus was actively circulating in South Vietnam in the first months of 2020. Residents of large cities and industrial centers were mainly involved in the epidemic process. Measles spread mainly among unvaccinated (71.58%) subjects, or who was unaware of vaccinations (25.48%), but also among those who were vaccinated (2.12%) and revaccinated (0.64%). The absolute majority of cases (71%) affected children under the age of three, with a predominance of those at the first year of life. Among the latter, 48% were children aged 7–9 months old. In March–April 2020, there was a sharp decrease in the number of measles cases in South Vietnam, down to a sporadic level (from May 2020 to March 2021). This is probably due to the anti-epidemic measures that were carried out in the VNM in order to limit the spread of COVID-19. Consequently, after the restrictions are lifted, we can expect an increase in the measles incidence in VNM.

Key words: South Vietnam, measles, age groups, pandemic, COVID-19.

Введение

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определила борьбу с корью в глобальном масштабе в числе приоритетных задач XXI века.

Согласно стратегическому плану, к 2020 г. пять регионов ВОЗ должны были достигнуть элиминации кори. Западно-Тихоокеанский регион (ЗТР), включающий Социалистическую Республику Вьетнам (СРВ), входит в число этих регионов [5, 13].

Все страны ЗТР проводят вакцинацию против кори в рамках рутинной иммунизации (национальные календари прививок) или программы расширенной иммунизации (ПРИ).

В результате реализации «Региональной стратегии и плана действий по ликвидации кори и краснухи в западной части Тихого океана» начиная с 2005 г. ситуация по кори в ЗТР значительно улучшилась. С 2009 по 2012 г. число лабораторно подтвержденных случаев кори в регионе сократилось на 84%, показатель заболеваемости в целом снизился до 5,9 на 1 млн населения.

Во Вьетнаме вакцинация против кори детей в возрасте 9–11 месяцев была введена в национальный календарь прививок в 1982 г., и уже через два года после начала иммунизации в стране отмечалось снижение заболеваемости [4, 9, 15]. В 2006 г. была введена ревакцинирующая прививка для детей 18 месяцев, а также проводились кампании ПРИ в 2004, 2007–2008 гг. [3, 8, 11]. Эти годы характеризовались существенным снижением количества случаев кори в стране (рис. 1).

Однако в 2013–2015 гг. в ЗТР была зарегистрирована очередная эпидемия кори, которая развивалась в той или иной степени во всех стра-

нах региона [14, 17, 18]. Так, во Вьетнаме в 2013–2015 гг. в эпидемический процесс были вовлечены 24 города и провинции, включая крупные урбанистические центры Ханой и Хошимин: в 2013 г. и 2014 г. в стране было зарегистрировано 1233 и 7580 подтвержденных случаев кори соответственно. Проведенная в 2014–2015 гг. кампания дополнительной иммунизации детей до 14 лет [7, 10, 16] позволила снизить заболеваемость в 2015–2017 гг. Однако в 2018–2019 гг. начался новый подъем: 2256 и 14 156 случаев соответственно.

К началу 2020 г. показатель заболеваемости в большинстве стран региона существенно превышал необходимый для сертификации элиминации уровень (менее 1 случая на 1 млн населения). Так, во Вьетнаме в 2019 г. (рис. 1) было выявлено 14 156 случаев, что соответствует показателю 147,3 на 1 млн жителей.

Анализ причин продолжающейся активной циркуляции вируса кори в разных регионах мира представляется весьма важным. Учитывая, что 2020–2021 гг. — это время распространения новой коронавирусной инфекции, важно также оценить возможное влияние на заболеваемость корью противоэпидемических мер, направленных на борьбу с пандемией COVID-19. В данном исследовании проанализированы случаи кори в 2020–2021 гг. в Южном Вьетнаме.

Материалы и методы

На IgM-антитела к вирусу кори было исследовано 799 образцов сывороток крови, полученных с разных территорий Южного Вьетнама в период с января 2020 по март 2021 г. Образцы были получены от больных с экзантемными

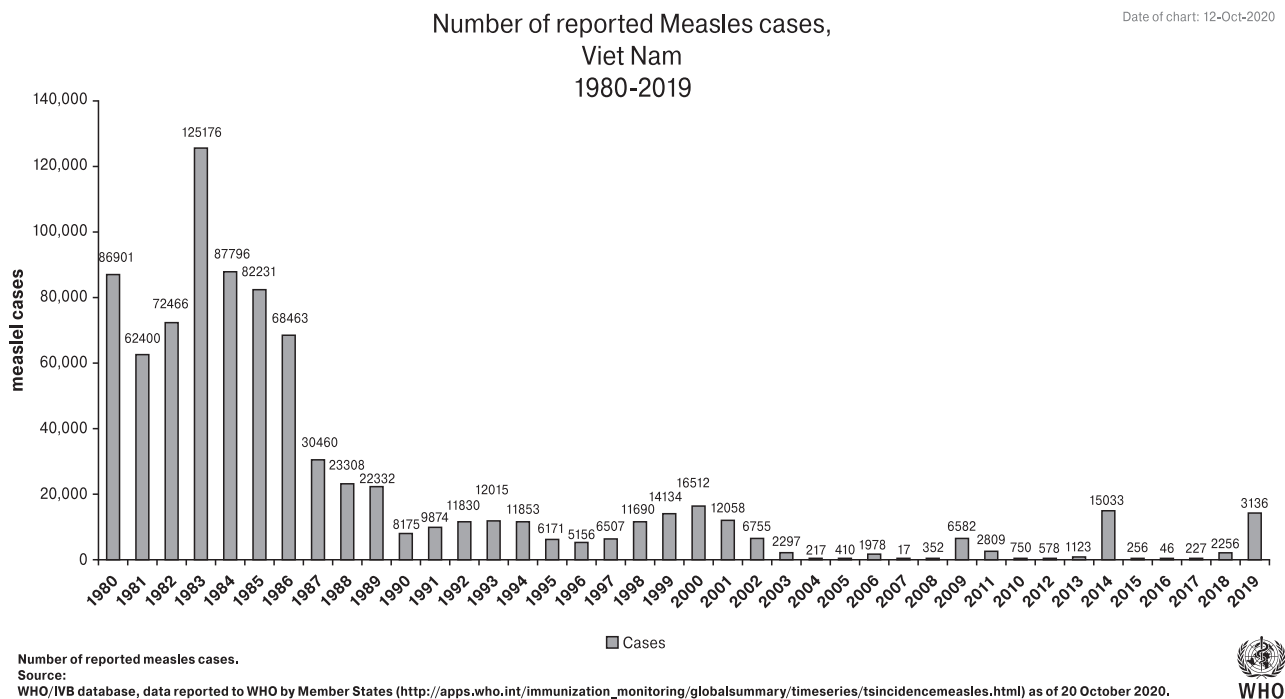


Рисунок 1. Количество случаев кори во Вьетнаме в период 1980–2019 гг.

Figure 1. 1980–2019 number of measles cases recorded in Vietnam

ми проявлениями инфекционного процесса. До проведения исследования образцы хранились при -20°C в музее лаборатории острых респираторных вирусных инфекций Института Пастера г. Хошимин, СРВ. Данная лаборатория является также региональной лабораторией по надзору за корью/краснухой в Южном Вьетнаме.

Наличие в сыворотке крови IgM-антител к вирусу кори оценивали как острую коревую инфекцию. Специфические иммуноглобулины М к вирусу кори выявляли в ИФА с помощью тест-системы Anti-Measles Virus ELISA (IgM) (Euroimmun, Германия).

Специфическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ MS Excel, Statistica 8.0 (StatSoft Inc.).

Рассчитывали стандартное отклонение для показателя частоты встречаемости IgM-положительных образцов у разных групп населения ($M \pm m$). Для сравнения выборок применяли параметрические и непараметрические методы статистического анализа, в том числе метод χ^2 (уровень статистической значимости $p < 0,05$).

Результаты

В 2020 г. были исследованы 767 сывороток крови от больных с макулопапулезной сыпью и общеинфекционным синдромом. В 468 образцах были выявлены IgM-антитела к вирусу кори. Доля положительных от общего числа тес-

тированных на корь сывороток крови составила $60,8 \pm 1,76\%$.

Территориальное распределение случаев кори в Южном Вьетнаме в 2020 г. представлено в табл. 1. Территориальная принадлежность одного образца IgM+ не установлена.

Наибольшее количество образцов было получено из госпиталя города Кантхо (код CAN), куда поступали больные с подозрением на корь, в том числе и из соседних провинций (коды HAU-CAN, VIN-CAN, KIE-CAN). Среди этих пациентов выявлено наибольшее количество случаев лабораторно подтвержденной коревой инфекции: CAN — 154 (85,1%), HAU-CAN — 56 (90,3%), VIN-CAN — 28 (82,4%), KIE-CAN — 11 (78,6%). Существенное количество и долю лабораторно подтвержденной кори регистрировали в провинции Донгтхеп (код DOT) — 54 (54,6%), городе Хошимин (код HCM) — 12 (85,7%), провинциях Биньзюнг (код BIN) — 24 (72,7%), Кьензянг (код KIE) — 23 (88,5%).

Города Хошимин и Кантхо — густонаселенные города СРВ. Провинции Донгтхеп, Биньзюнг, Кьензянг характеризуются наличием большого количества промышленных предприятий, в которые приезжают на работу жители соседних территорий.

Выявление случаев кори в разных возрастных группах среди лиц установленного возраста представлено в табл. 2. Наибольшее количество образцов от больных с подозрением на корь было получено от детей в возрасте до года ($n = 339$) и от года до трех лет ($n = 216$). В этих воз-

Таблица 1. Выявление IgM-положительных к вирусу кори сывороток крови на разных территориях Южного Вьетнама (2020 г.)

Table 1. Detection of IgM-measles (+) blood sera in different territories of South Vietnam (2020)

Провинция, город, госпиталь* Province, city, hospital*	Число образцов (сыворотки крови) Number of samples (blood serum)	Из них IgM- корь (+) Of these, IgM is measles (+)	
		абс. abs.	доля (%) share (%)
BAR	8	8	100
SOC-CAN	13	12	92,3
HAU-CAN	62	56	90,3
KIE	26	23	88,5
HCM	14	12	85,7
CAN	181	154	85,1
VIN-CAN	34	28	82,4
KIE-CAN	14	11	78,6
BIN	33	24	72,7
TRA	7	4	57,1
DOT	99	54	54,6
LON	13	6	46,2
VIN	9	4	44,4
HAU	14	6	42,9
SOC	58	22	37,9
DON	8	3	37,5
BAC	11	4	36,4
LAM	14	4	28,6
BEN	24	3	12,5
ANG	43	5	11,6
TIE	57	6	10,5
Другие/Other	25	18	72,0
Всего/Total	767	467	60,9±1,76

Примечание. * — представлены внутренние коды территорий и госпиталя г. Кантхо, откуда образцы поступали на исследование в лабораторию по надзору за корью и краснухой Института Пастера (г. Хошимин). В таблице не представлены территории, где случаи кори не выявлялись.

Note. * — the internal codes of the territories and the hospital at the city of Cantho are presented, from where the samples were received for research at the laboratory for the supervision of measles and rubella of the Pasteur Institute (Ho Chi Minh City). The territories where measles cases have not been detected are not presented in the Table.

растных группах выявлено и основное количество IgM-положительных образцов: 184 и 146 соответственно. Наибольшую долю заболевших корью в 2020 г. составили дети до года — 39,6%. Вторая по значимости возрастная группа — дети от 1 года до 3 лет, где было выявлено 31,4% больных. В целом дети младшего возраста составили 71% всех переболевших, что достоверно выше, чем в остальных пяти возрастных группах совокупно ($p < 0,05$).

В 3-й и 4-й возрастных группах выявлена равнозначная доля IgM+ образцов: 11,6 и 11,4% соответственно. Доля взрослых в общей возрастной структуре заболевших корью колебалась от 0,2 до 2,8%.

Учитывая, что наибольшее количество заболевших корью выявлено среди детей первого года жизни ($n = 203$), эти случаи были проанализированы более тщательно (табл. 3).

Наибольшее количество заболевших от общего их числа пришлось на детей 7, 8 и 9 месяцев: 28 (13,79%), 30 (14,78%), 40 (19,70%) случаев соответственно. В целом дети 7–9 месяцев составили почти половину перенесших корь в 1-й возрастной группе — 48,27%. Также выявлено большое количество заболевших детей одиннадцатимесячного возраста — 25, или 12,32%.

Важно отметить наличие случаев кори среди детей первого полугодия жизни, когда материнские антитела еще должны защищать ребенка от инфекции. Всего в возрасте 6 месяцев и младше заболели 47 детей, или 23,15%, причем трое из них — на первом месяце жизни.

Существенных гендерных различий среди заболевших в целом не обнаружено: корь перенесли 58,9±5,47% мужчин и 62,9±2,68% женщин. Однако в возрастной группе 7–14 лет установлено преобладание среди переболевших лиц женского пола по сравнению с лицами мужского пола: 28 (73,7±7,14%) против 24 (48,9±7,14%). Возможно, это связано с более тесным контактом девочек с детьми младшего возраста в се-

Таблица 2. Выявление IgM-антител к вирусу кори в сыворотках крови жителей Южного Вьетнама разных возрастных групп (2020 г.)

Table 2. Detection of IgM-measles (+) blood sera from South Vietnam residents of various age groups (2020)

№ группы Group No.	Возраст, лет Age, years	Всего исследовано сывороток крови Total blood sera examined	Из них IgM-корь (+) Of these, IgM-measles (+)		Доля (%) заболевших в данной возрастной группе от общего числа заболевших The proportion (%) of cases in this age group out of total number of cases
			абс. abs.	доля (%), M±m share (%), M±m	
1	< 1	339	184	54,3±2,71	39,56
2	1–3	216	146	67,6±3,18	31,40
3	4–6	65	54	83,1±4,85	11,61
4	7–18	92	53	57,6±5,26	11,40
5	19–29	18	12	66,7±11,11	2,58
6	30–39	20	13	65,0±10,94	2,80
7	40 и >	17	3	17,7±9,54	0,65
Итого/Total	767	465	60,6±1,76	100	

мьях. Тем не менее небольшие численные основания исследованных сывороток не позволяют считать выявленные различия значимыми.

Наибольшее количество случаев инфекции регистрировали среди не привитых против кори ($n = 335$) или лиц, не имеющих сведений о прививках ($n = 120$) (табл. 4). Однако среди заболевших были выявлены 10 человек (2,12%), привитых однократно, и трое (0,64%), получивших две дозы вакцины.

Внутригодовая динамика заболеваний корью в 2020 г. представлена в табл. 5. Наибольшее количество заболевших регистрировали в январе ($n = 251$) и феврале ($n = 157$) 2020 г. В марте–апреле количество заболевших корью существенно сократилось: 48 и 7 случаев соответственно. В мае был выявлен один случай, в июле и августе по два случая кори. В июне, а также в период с сентября по декабрь 2020 г. случаев кори в Южном Вьетнаме не регистрировали.

В период с января по март 2021 г. в лабораторию по надзору за корью и краснухой Института Пастера (г. Хошимин) поступило на исследование 25 сывороток крови с подозрением на корь, и только в одном случае клинический диагноз был подтвержден лабораторно.

Таким образом, начиная с марта 2020 г. отмечено существенное снижение активности инфекционного процесса кори в Южном Вьетнаме вплоть до апреля 2021 г. (период наблюдения).

Обсуждение

В 1974 г. в Западно-Тихоокеанском регионе ВОЗ было зарегистрировано 3 381 826 случаев кори, при этом 33 818 заболевших умерли. К 1990 г. число случаев кори сократилось до 155 000, количество летальных исходов — до 1561 [7, 12, 15].

Однако, несмотря на достигнутые успехи в борьбе с корью, эпидемические подъемы заболеваемости имели место в разных странах региона в те или иные годы.

Полученные в данном исследовании результаты свидетельствуют о том, что в 2020 г. вирус кори активно циркулировал в Южном Вьетнаме: было выявлено 468 IgM-положительных к вирусу сывороток крови из 767 исследованных ($60,8 \pm 1,76\%$).

Корь регистрировали на большинстве обследованных территорий (34 из 37). Наиболее интенсивно инфекция распространялась в мегаполисе, городе Хошимине, и в городе Кантхо, где расположен крупный госпиталь, в том числе для больных корью, а также в провинциях, где сосредоточены крупные предприятия и учебные заведения (Донгтхап, Биньзюнг, Кьензянг). Таким образом, корь ожидаемо ре-

Таблица 3. Выявление IgM-антител к вирусу кори в сыворотках крови детей первого года жизни

Table 3. Detection of IgM-measles (+) in blood sera from children at the first year of life

Возраст (месяцы) Age (months)	Число IgM-корь (+) IgM-measles (+) number	
	абс. abs.	доля (%) share (%)
1	3	1,48
2	1	0,49
3	6	2,96
4	9	4,43
5	12	5,91
6	16	7,88
7	28	13,79
8	30	14,78
9	40	19,70
10	17	8,37
11	25	12,32
12	16	7,88
Всего Total	203	100

гистрировалась преимущественно в местах интенсивных контактов между людьми.

В эпидемический процесс были вовлечены преимущественно не привитые против кори — 335 (71,58%) или лица, не имеющие сведений о прививках, — 120 (25,48%) человек.

Оценивая возрастное распределение случаев заболевания, следует отметить, что корь в Южном Вьетнаме в 2020 г. распространялась в основном среди детей в возрасте до трех лет (71% от всех переболевших). При этом в структуре заболевших преобладали дети первого года жизни, несмотря на то что первичной плановой

Таблица 4. Распределение случаев кори в Южном Вьетнаме по вакцинальному статусу

Table 4. Distribution of measles cases in South Vietnam according to vaccine status

Вакцинальный статус Vaccine status	Количество заболевших корью Number of measles cases	
	абс. abs.	доля (%) share (%)
Невакцинированные Unvaccinated	335	71,58
Нет сведений о прививках No information about vaccinations	120	25,48
Вакцинированные Vaccinated	10	2,12
Ревакцинированные Revaccinated	3	0,64
Общее число случаев Total number of cases	468	100

Таблица 5. Распределение IgM-положительных к вирусу кори сывороток крови в зависимости от месяца заболевания (2020 г.)

Table 5. Distribution of IgM-measles (+) blood sera depending on the month of disease onset (2020)

Начало заболевания (обращения к врачу), месяц The onset of the disease (visits to the doctor), month	Общее количество сывороток Total number of serum samples	Из них IgM-корь (+) Of these, IgM-measles (+)	
		абс. abs.	доля (%) share (%)
01.2020	283	251	88,7±1,88
02.2020	203	157	77,3±2,94
03.2020	83	48	57,8±5,42
04.2020	32	7	21,9±1,77
05.2020	23	1	4,4
06.2020	18	0	0
07.2020	29	2	6,9
08.2020	28	2	7,1
09.2020	31	0	0
10.2020	16	0	0
11.2020	17	0	0
12.2020	7	0	0
Всего/Total	770	468	60,8±1,76

вакцинации против кори во Вьетнаме подлежат дети в возрасте 9–11 месяцев.

По данным ВОЗ, охват первичной вакцинацией в СРВ в период с 2000 по 2018 г. колебался, снижаясь до 80% в 2007 г. или повышаясь до 97–98% в период 2012–2016 гг. (рис. 2) [6, 9], после чего было отмечено несущественное снижение

количества детей, получивших прививку против кори. Так, в 2019 г. охват первичной вакцинацией был лишь немного ниже декларируемого уровня (95%) (рис. 2), что не объясняет столь активное распространение инфекции среди детей первого года жизни.

Для более тщательного изучения распространения кори в этой возрастной группе случаи заболевания были проанализированы по месяцам жизни. Установлено, что почти половина случаев кори (48%) пришлось на детей 7–9 месяцев, то есть детей «допрививочного возраста», уже утративших материнские антитела, но еще не привитых против кори. Однако корь распространялась и среди детей первого полугодия жизни: всего в возрасте 6 месяцев и младше заболели 23,15% детей. Можно предположить, что эти дети были рождены от не имеющих иммунитета к кори женщин — не болевших, не вакцинированных или утративших антитела после вакцинации. Выявлено также достаточно большое количество заболевших в возрасте 11 месяцев — 25, или 12,32%.

Иммунный ответ на вакцинацию привитых в возрасте до года, видимо, не всегда обеспечивает стойкую защиту от инфекции из-за не полностью сформированной иммунной системы детей младшего возраста. Так, в настоящем исследовании 13 из 468 случаев заболевания в 2020–2021 гг. были выявлены у лиц, получивших одну ($n = 10$) или две ($n = 3$) прививки против кори. Эти данные соотносятся с результатами, представленными ранее. Например, во время эпидемического подъема заболеваемо-

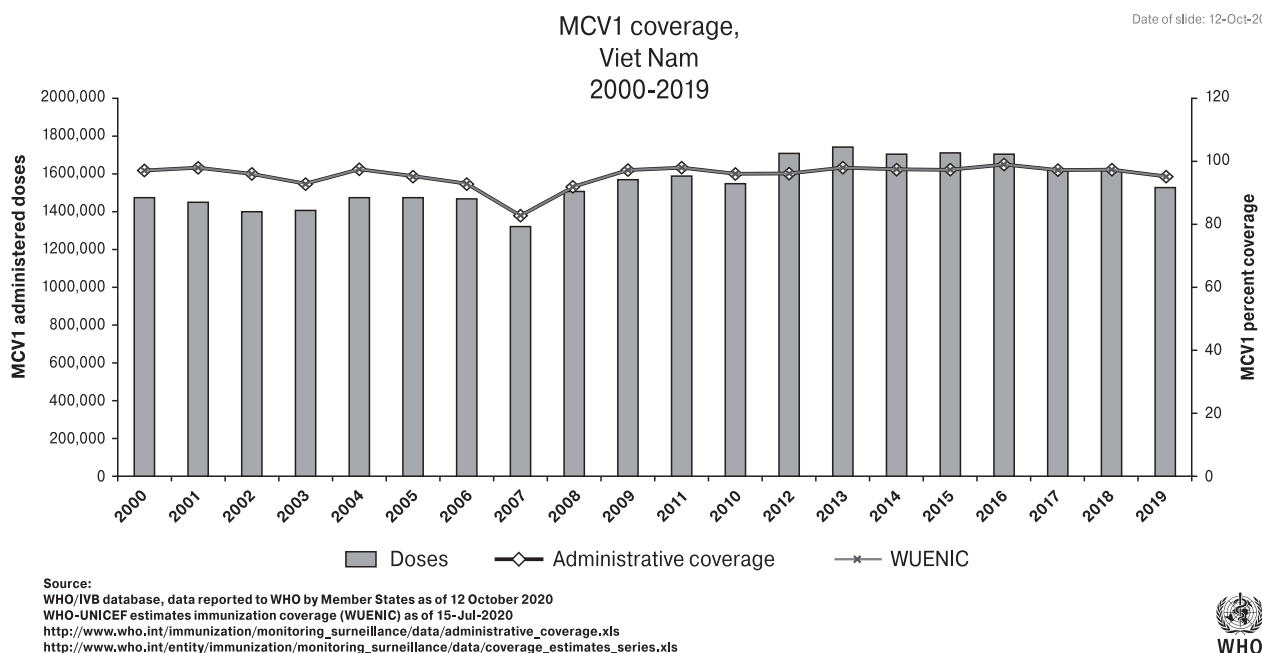


Рисунок 2. Охват первичной вакцинацией против кори во Вьетнаме в 2000–2019 гг.

Figure 2. 2000–2019 coverage of primary measles vaccination in Vietnam

сти корью во Вьетнаме в 2014 г. отмечалось, что среди заболевших детей младших возрастных групп 22,4% были вакцинированы, а 1,3% ревакцинированы [8]. Случаи заболевания корью привитых и ревакцинированных лиц отмечены и в работах других авторов [2, 6].

Большой интерес, на наш взгляд, представляют данные помесечного распределения случаев кори в 2020 г. (табл. 5). Абсолютное большинство заболевших пришлось на январь (251 случаев) и февраль (157), составив совокупно 89,3% всех переболевших корью. В марте–апреле отмечено резкое снижение количества заболевших. Далее, в период с мая по декабрь 2020 г. и до апреля 2021 г. (период наблюдения), корь или не выявлялась, или имели место спорадические случаи.

В предыдущие годы корь во Вьетнаме характеризовалась вспышками, протекающими несколько месяцев, с зимне-весенней сезонностью [1, 6, 11, 17]. Так, эпидемическая вспышка коревой инфекции, начавшаяся в марте 2008 г., продолжалась до июня, с пиком заболеваемости в мае (1920 случаев), и сопровождалась второй волной, начавшейся в октябре и достигшей пика в декабре (2593 случая) того же года [6].

По нашему мнению, существенное снижение заболеваемости корью, которое наблюдается во Вьетнаме в настоящее время, связано с пандемией COVID-19 и чрезвычайными мерами, направленными на ограничение распространения инфекции, которые были приняты в стране начиная с марта 2020 г. и применяются в той или иной степени и в 2021 г.

Для предотвращения импортирования вируса SARS-CoV-2 из других стран, прежде всего из КНР, с которой СРВ имеет протяженную границу, и для ограничения его распространения Вьетнамским национальным комитетом по предотвращению и мониторингу COVID-19 была разработана концепция «классификации рисков». Согласно данной концепции 63 провинции страны были разбиты на несколько регионов — с высоким, средним и низким уровнем коронавирусной угрозы. Соответственно, меры социального дистанцирования варьировали в зависимости от градации того или иного города или провинции. Классификация рисков

учитывала несколько ключевых факторов: расположение региона, численность и плотность населения, наличие промышленных предприятий и инфраструктурных объектов, мест, где останавливаются иностранцы, а также возможности системы здравоохранения.

Так, в девятимиллионном Хошимине, где отмечались высокие показатели заболеваемости коронавирусной инфекцией, был введен строгий локдаун. В рамках режима самоизоляции гражданам запрещалось выходить из домов без жизненной необходимости; были закрыты торговые центры, туристические объекты, отменены все массовые мероприятия; в июле в городе был введен комендантский час. Жесткий локдаун продолжался до середины августа, но в той или иной степени сохранялся в Южном Вьетнаме до конца 2021 г. Принятые противоэпидемические меры сказались не только на уровне заболеваемости COVID-19, но и резко ограничили распространение кори, прервав пути передачи инфекции.

Заключение

Вирус кори активно циркулировал в Южном Вьетнаме в первые месяцы 2020 г. В эпидемический процесс кори прежде всего были вовлечены жители крупных городов и промышленных центров.

Преимущественно корь распространялась среди не привитых или не имеющих сведений о прививках, но среди заболевших были вакцинированные и ревакцинированные лица.

Абсолютное большинство заболевших (71%) — дети в возрасте до трех лет, с преобладанием детей первого года жизни, не вакцинированных против кори.

Резкое снижение количества случаев кори в Южном Вьетнаме в период с марта 2020 г. по март 2021 г. (период наблюдения) связано, по-видимому, с противоэпидемическими мероприятиями, которые проводились в СРВ с целью ограничения распространения COVID-19. Следовательно, после отмены мер социального дистанцирования и других санитарно-эпидемиологических ограничений можно ожидать повышения заболеваемости корью во Вьетнаме и других вовлеченных в пандемию странах.

Список литературы/References

1. Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н. К вопросу о реализации программы элиминации кори в странах Западно-Тихоокеанского региона ВОЗ // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 4. С. 465–472. [Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Lavrentieva I.N. Implementation of the World Health Organization Western Pacific Regional plan of action for measles elimination. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 4, pp. 465–472. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-4-465-472
2. 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. [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. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 570–574. (In Russ.)] doi: 10/15789/2220-7619-DOM-1333

3. Hang L.K.N., Do L.P., Van T.T.T., Nguyen S.V., Hoang P.V.M., Pham H.T., Le T.T., Tran H.T.T., Vuong C.D., Mai T.Q.L. Viral co-infections among children with confirmed measles at hospitals in Hanoi, Vietnam, 2014. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 2017, vol. 10, no. 2, pp. 171–174. doi: 10.1016/j.apjtm.2017.01.015
4. Marin M., Nguyen H.Q., Langidrik J.R., Edwards R., Briand K., Papania M.J., Seward J.F., LeBaron C.W. Measles transmission and vaccine effectiveness during a large outbreak on a densely populated island: implications for vaccination policy. *Clin. Infect. Dis.*, 2006, vol. 42, no. 3, pp. 315–319. doi: 10.1086/498902
5. Measles and rubella strategic framework 2021–2030. Geneva: WHO, 2020. 48 p. URL: http://www.immunizationagenda2030.org/images/documents/measles_rubella_initiative_Digital3.pdf
6. Nmor J.C., Thanh H., Goto K. Recurring measles epidemic in Vietnam 2005–2009: implication for strengthened control strategies. *Int. J. Biol. Sci.*, 2011, vol. 7, no. 2, pp. 138–146. doi: 10.7150/ijbs.7.138
7. Patel M.K., Gacic-Dobo M., Strebel P.M., Dabbagh A., Mulders M.N., Okwo-Bele J.-M., Dumolard L., Rota P.A., Kretsinger K., Goodson J.L. Progress towards regional measles elimination — worldwide, 2000–2015. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.*, 2016, vol. 65, no. 44, pp. 525–536. doi: 10.15585/mmwr.mm6544a6
8. Pham V.H., Nguyen D.P.H., Mai Kh.N.H., Truong Kh.H., Huynh L.V. Measles epidemics among children in Vietnam: genomic characterization of virus responsible for measles outbreak in Ho Chi Minh city, 2014. *eBioMedicine*, 2014, vol. 1, no. 2–3, pp. 133–140. doi: 10.1016/j.ebiom.2014.10.015
9. Roberts L. In Vietnam, an anatomy of a measles outbreak. *Science*, 2015, vol. 348, no. 6238: 962. doi: 10.1126/science.348.6238.962
10. Schluter W.W., Xiaojun W., Mendoza-Aldana J., Jee Y., Diorditsa S. Progress toward measles elimination — Western Pacific Region, 2009–2012. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.*, 2013, vol. 62, no. 22, pp. 443–447.
11. Sniadack D.H., Mendoza-Aldana J., Huyen D.T.T., Van T.T.T., Cuong N.V., Olive J.M., Toda K., Hien N.T. Epidemiology of a measles epidemic in Vietnam 2008–2010. *J. Infect. Dis.*, 2011, vol. 204, no. 1, pp. S476–S482. doi: 10.1093/infdis/jir092
12. Soakai T.S., Sadr-Azodi N., Ozturk M., Clements C.J. Measles control in Pacific Island countries and territories. *Ann. Virol. Res.*, 2016, vol. 2, no. 3: 1022.
13. WHO. Global measles and rubella strategic plan: 2012–2020. Geneva: WHO, 2012. 44 p.
14. WHO. Global measles and rubella update. April 2018. Measles. WHO, 2018. 54 p.
15. WHO. Measles and rubella elimination in the Western Pacific: regional strategy and plan of action. Annex. WHO, 2017. 101 p.
16. WHO. Measles reported cases. Last update: 15-Oct-2020 (data received as of 12-Oct-20). URL: https://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/timeseries/tsincidence measles.html
17. WHO. Reported measles cases and incidence rates by WHO States 2013, 2014 as of 11 February 2015. WHO, 2015. 7 p. URL: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/active/measlesreportedcasesbycountry.pdf
18. Zhang Y. An update for the Western Pacific region including an update on the current outbreak in Mongolia. In: Report on the 13th global measles and rubella laboratory network meeting, WHO/HQ Geneva 29 June — 1 July. Geneva: WHO, 2015, pp. 18–20.

Авторы:

Лаврентьева И.Н., д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Хоанг М., научный сотрудник отдела микробиологии и иммунологии Института имени Пастера в г. Хошимин, г. Хошимин, Вьетнам;
Антипова А.Ю., к.б.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Бичурин М.А., д.м.н., зав. вирусологической лабораторией центра по элиминации кори и краснухи ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Тотолян Арег А., академик РАН, д.м.н., профессор, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Lavrentieva I.N., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Hoang M., Researcher, Department of Microbiology and Immunology, Ho Chi Minh Pasteur Institute, Ho Chi Minh City, Vietnam;
Antipova A.Yu., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Bichurina M.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Virological Laboratory of the Measles and Rubella Elimination Center, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Totolian Areg A., RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Director of St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА РАННЕГО РАКА ЖЕЛУДКА, АССОЦИИРОВАННОГО С ИНФЕКЦИЕЙ *HELICOBACTER PYLORI*, У ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ

О.В. Смирнова, В.В. Цуканов, А.А. Синяков, Н.Г. Елманова, О.Л. Москаленко, Е.С. Овчаренко

ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия

Резюме. Целью нашей работы стала оценка клинико-анамнестических, серологических, иммунологических и биохимических тестов, используемых для ранней диагностики рака желудка (РЖ), ассоциированного с инфекцией *Helicobacter pylori*, у взрослого населения Красноярского края. *Материалы и методы.* Контрольная группа была сформирована из 104 практически здоровых доноров крови, в группу сравнения входили 97 пациентов с хроническим атрофическим гастритом (ХАГ), а в группу больных ранним РЖ — 98 пациентов. Оценка спонтанной и индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) моноцитов и нейтрофилов осуществлялась на 36-канальном биохемилуминометре «БЛМ-3607». Оценка фагоцитоза проводилась на проточном цитометре Beckman Coulter FC 500. Для изучения процессов перекисного окисления липидов и факторов системы антиоксидантной защиты использовали спектрофлуориметр Varian Cary Eclipse. *Результаты и обсуждение.* При изучении фагоцитарного звена иммунитета было обнаружено, что у всех больных ранним РЖ диагностировались показатели максимальной интенсивности спонтанной ХЛ нейтрофилов от 17 831 у.е. и ниже, а при индуцированной ХЛ — от 30 000 у.е. и ниже. Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов у больных ранним РЖ составляла 36% и ниже. При изучении показателей моноцитов было выявлено, что при снижении спонтанной ХЛ от 454 у.е. и снижении индуцированной ХЛ от 1186 у.е. у пациентов в нашем исследовании диагностировался ранний рак желудка. Фагоцитарная активность моноцитов при раннем РЖ составляла 34% и ниже. При исследовании перекисного окисления липидов и факторов системы антиоксидантной защиты у пациентов с ХАГ и РЖ было выявлено повышение уровня малонового диальдегида (MDA). У больных РЖ происходило снижение активности фермента каталазы (CAT). У больных ХАГ происходило снижение уровня глутатионпероксидазы (GPO). У больных ранним РЖ обнаруживалось увеличение активности фермента GPO. Нами были предложены коэффициенты для оценки факторов системы антиоксидантной защиты у пациентов: коэффициент отношения активности фермента супероксиддисмутазы к каталазе (SOD/CAT) и коэффициент отношения активности фермента супероксиддисмутазы к глутатионпероксидазе

Адрес для переписки:

Смирнова Ольга Валентиновна
660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г,
ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского
отделения Российской академии наук, обособленное
подразделение НИИ медицинских проблем Севера.
Тел.: 8 913 567-97-19.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Contacts:

Olga V. Smirnova
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk, Partizana
Zheleznyaka str., 3G, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian
Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute
of Medical Problems of the North.
Phone: +7 913 567-97-19.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Для цитирования:

Смирнова О.В., Цуканов В.В., Синяков А.А., Елманова Н.Г.,
Москаленко О.Л., Овчаренко Е.С. Комплексная диагностика раннего
рака желудка, ассоциированного с инфекцией *Helicobacter pylori*,
у взрослого населения Красноярского края // Инфекция и иммунитет.
2022. Т. 12, № 1. С. 113–119. doi: 10.15789/2220-7619-ACD-1655

Citation:

Smirnova O.V., Tsukanov V.V., Sinyakov A.A., Elmanova N.G.,
Moskalenko O.L., Ovcharenko E.S. A complex diagnostics of early gastric
cancer associated with *Helicobacter pylori* infection in the adult population
of the Krasnoyarsk Territory // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 113–119. doi: 10.15789/2220-
7619-ACD-1655

(SOD/GPO). *Заключение.* При проведении исследования были получены пороговые значения показателей для формирования групп высокого риска развития раннего РЖ, которые могут использоваться для скрининга взрослого населения.

Ключевые слова: ранний рак желудка, хемилуминесценция, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, *Helicobacter pylori*, хронический атрофический гастрит, предракочные состояния желудка.

A COMPLEX DIAGNOSTICS OF EARLY GASTRIC CANCER ASSOCIATED WITH *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION IN THE ADULT POPULATION OF THE KRASNOYARSK TERRITORY

Smirnova O.V., Tsukanov V.V., Sinyakov A.A., Elmanova N.G., Moskalenko O.L., Ovcharenko E.S.

Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. The aim of our study was to evaluate the clinical-anamnestic, serological, immunological and biochemical tests used for early diagnostics of gastric cancer associated with *Helicobacter pylori* infection in the adult population of the Krasnoyarsk Territory. *Materials and methods.* The control group consisted of 104 apparently healthy blood donors, the comparison group – 97 patients with chronic atrophic gastritis as well as a group of patients with early gastric cancer comprising 98 subjects. Assessment of monocyte and neutrophil spontaneous and induced chemiluminescence (CL) was carried out on a 36-channel biochemiluminometer BLM-3607. Phagocytosis was measured by using a Beckman Coulter FC 500 flow cytometer. A Varian Cary Eclipse spectrofluorometer was used to study lipid peroxidation and factors of the antioxidant defense system. *Results and discussion.* While studying the phagocytic arm of immunity, it was found that all patients with early gastric cancer were reported to have parameters of the maximum intensity for neutrophil spontaneous CL from 17 831 c.u. and lower, whereas induced CL reached at least 30 000 c.u. Phagocytic activity of neutrophilic granulocytes in patients with early gastric cancer was 36% or less. While studying the indicators of monocytes, it was found that spontaneous and induced CL decreased from 454 c.u. and 1186 c.u., respectively, in the patients with early gastric cancer. Monocytic activity in early gastric cancer was 34% or less. In the study of lipid peroxidation, an antioxidant defense in patients with chronic atrophic gastritis and gastric cancer had increased malondialdehyde (MDA) level. Patients with gastric cancer had decreased activity of the enzyme catalase (CAT), whereas subjects with chronic atrophic gastritis had reduced glutathione peroxidase (GPO) level. In contrast, patients with early gastric cancer were featured with increased GPO activity. We have proposed coefficients for assessing the factors of the antioxidant defence system in patients: the ratio for superoxide dismutase to catalase activity (SOD/CAT) as well as the ratio for superoxide dismutase to glutathione peroxidase activity (SOD/GPO). *Conclusion.* During the study, threshold values of parameters were obtained for assigning groups at high risk of developing early gastric cancer, which can be used for screening in adult population.

Key words: early gastric cancer, chemiluminescence, lipid peroxidation, antioxidant protection, *Helicobacter pylori*, chronic atrophic gastritis, stomach precancerous conditions.

Введение

Одной из нерешенных проблем медицины являются злокачественные онкологические заболевания. Рак желудка (РЖ), его гистологический вариант аденокарцинома — самое распространенное злокачественное новообразование данного органа [12]. Для опухоли характерно медленное развитие с быстрым, стремительным метастазированием [9]. Наиболее часто железистый рак желудка выявляется у трудоспособных мужчин среднего возраста. Для начальных стадий характерно бессимптомное и малосимптомное течение, в связи с этим диагностика заболевания осуществляется на поздних стадиях развития [7, 8]. Аденокарцинома желудка занимает второе место по смертности среди онкологических заболеваний [1, 4, 13]. Аденокарцинома желудка локализуется в разных отделах органа-мишени и метастазирует в пищевод, легкие и печень. Вторичные опухоли развиваются у 80–90% больных РЖ, при

этом в случае ранней диагностики болезни шестимесячная выживаемость составляет 65%, а в случае поздней — менее 15%. Самая высокая выживаемость при злокачественной опухоли желудка отмечается в Японии — 53%, в остальных странах она не превышает 15–20%. В патогенезе РЖ важную роль играют нарушение кровоснабжения стенок желудка с расстройствами питания. Однако имеются подтвержденные данные о зависимости РЖ от инфицированности бактерией *Helicobacter pylori* [16, 17]. Также считается, что именно данная бактерия запускает цепь реакций, способствующих возникновению хронического атрофического гастрита (ХАГ), а в будущем и вызывает трансформацию в РЖ [11, 10]. Известно об увеличении риска развития РЖ у пациентов, инфицированных данной бактерией [14, 19].

Единственная возможность разорвать патогенетическую цепь развития РЖ обусловлена потенциальной обратимостью предракочных состояний слизистой оболочки желудка.

Ранняя диагностика хронического атрофического гастрита является профилактической мерой и должна проводиться как при наличии, так и при отсутствии симптомов диспепсии. Скрининговый тест должен обладать высокой эффективностью, при этом быть безопасным и удобным для пациентов [15].

В связи с этим целью нашей работы стала оценка клинико-анамнестических, серологических, иммунологических и биохимических тестов, используемых для ранней диагностики РЖ, ассоциированного с инфекцией *Helicobacter pylori*, у взрослого населения Красноярского края.

Материалы и методы

Исследование проводилось после одобрения протокола исследования локальным этическим комитетом ФИЦ КНЦ СО РАН и этическим комитетом Красноярского краевого клинического онкологического диспансера им. А.И. Крыжановского.

В исследование были включены пациенты от 45 до 59 лет, средний возраст составил $53 \pm 5,7$. У всех больных были жалобы на боль в эпигастриальной области и/или диспепсию. Кроме того, у всех пациентов анамнез был отягощен заболеваниями желудка (хронический гастрит, язвенная болезнь желудка).

Клиническое обследование мужчин, больных ХАГ, осуществлялось в терапевтическом отделении НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН, клиническое обследование пациентов с РЖ осуществлялось в Красноярском краевом клиническом онкологическом диспансере им. А.И. Крыжановского на отделении онкоабдоминальной хирургии им. Н.А. Рыкованова. Все лабораторные исследования проводились при поступлении пациентов в стационар до начала патогенетической терапии. Материалом исследования была венозная кровь, которая бралась у больных утром с 8 до 9 часов, натощак, из локтевой вены, в пробирки Vacutainer с разделительным гелем и двойным активатором свертывания (кремнезем) и Vacutainer с раствором гепарина натрия (5 ЕД/мл).

Контрольная группа состояла из 104 практически здоровых доноров крови среднего возраста ($48,7 \pm 3,9$ лет) без гастроэнтерологических жалоб и гастроэнтерологического анамнеза, без изменений слизистой оболочки желудка (СОЖ) по данным ЭФГДС. В исследование не включались пациенты с ВИЧ-инфекцией, гепатитом, туберкулезом, язвенной болезнью желудка, имеющие сопутствующие острые и хронические заболевания в фазе обострения, лица, отказавшиеся принять участие в научном исследовании.

В группу сравнения входили 97 пациентов с ХАГ ($47,2 \pm 4,9$ лет). Диагноз верифицирован гастроэнтерологом при обследовании впервые на основании эпидемиологических, клинико-анамнестических данных и подтвержден серологическим исследованием пепсиногенов методом ИФА и атрофическими изменениями слизистой оболочки большой и малой кривизны тела желудка с использованием модифицированной Сиднейской классификации при фиброэзофагогастроуденоскопии. Критерии исключения аналогичны критериям, используемым для контрольной группы.

Группу больных ранним РЖ составили 98 пациентов на начальных стадиях заболевания. Средний возраст больных РЖ, поступивших в отделение, составил $49,2 \pm 4,9$ лет. Диагноз выставлен на основании клинических, анамнестических, лабораторных и инструментальных данных врачом-онкологом.

Во всех группах выявляли наличие *H. pylori* методом ИФА с помощью определения титра специфических антител к антигену CagA *H. pylori*. Титры антител от 30 EIU и более считали положительным результатом, менее 30 EIU — отрицательным результатом определения *H. pylori*.

Оценка спонтанной и индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) осуществлялась в течение 90 мин на 36-канальном биохемилюминетре «БЛМ-3607» (Россия), для подсчета клеток использовали флюоресцентный микроскоп Olympus. Определяли время выхода на максимум (T_{max}), максимальное значение (I_{max}) ХЛ и площадь кривой (S). Для усиления хемилюминесценции использовали активатор — люминол, а в качестве индуктора — зимозан. Оценка фагоцитоза определялась на проточном цитометре Beckman Coulter Cytomys FC 500.

Для изучения процессов перекисного окисления липидов и факторов системы антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) были исследованы концентрации первичных (диеновые конъюгаты) и конечных (малоновый диальдегид) продуктов липопероксидации, образующихся на различных этапах свободнорадикальной цепной реакции. Об активности АОЗ судили по содержанию основных ее компонентов (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы, церулоплазмينا). Для изучения системы ПОЛ-АОЗ использовали спектрофлюориметр Varian Cary Eclipse.

По результатам проведенных исследований в пакете электронных таблиц MS Excel была сформирована база данных. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft, США). Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального

распределения проводился с использованием критерия Шапиро–Уилка. При описании выборки вычислялись медиана (Me) и интерквартильный размах процентилей (C_{25} – C_{75}). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна–Уитни ($p < 0,05$) [6].

Результаты

В ходе скринингового исследования было обнаружено, что у всех пациентов с ранним РЖ в возрасте старше 45 лет выявлялись жалобы на боль в эпигастральной области и/или диспепсию, а в анамнезе регистрировались такие заболевания желудка, как ХАГ, язвенная болезнь желудка, полипы желудка и т. д. ($p < 0,05$). При серологической диагностике больных ранним РЖ были выявлены обсемененность бактерией *Helicobacter pylori* в 100% случаев ($p < 0,05$), снижение уровня PGI менее 25 мкг/л и соотношения PGI/PGII меньше трех в большинстве случаев ($p < 0,05$), у половины больных выявлялась дисплазия СОЖ ($p < 0,05$).

При исследовании фагоцитарного звена у здоровых доноров крови, больных ХАГ и РЖ были выявлены следующие закономерности. При изучении максимальной интенсивности спонтанной и индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) нейтрофилов у больных ХАГ происходило повышение данного показателя относительно контрольной группы и группы больных ранним РЖ ($p_{1-2} = 0,03$; $p_{1-3} = 0,03$) (табл. 1).

У больных ранним РЖ происходило снижение максимальной интенсивности спонтанной и индуцированной ХЛ нейтрофилов относительно контрольной группы ($p_{2-3} = 0,03$; $p_{2-3} = 0,04$). При изучении фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных ХАГ и ранним РЖ происходило снижение количества фагоцитирующих нейтрофилов относительно контрольной группы.

При изучении фагоцитарного звена иммунитета было обнаружено, что у всех больных ранним РЖ диагностировались показатели максимальной интенсивности спонтанной ХЛ нейтрофилов от 17 831 у.е. и ниже, а при индуцированной ХЛ — от 30 000 у.е. и ниже. Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов у больных ранним РЖ составляла 36% и ниже.

При изучении максимальной интенсивности спонтанной и индуцированной ХЛ моноцитов у больных ХАГ происходило повышение данного показателя по сравнению с показателем контрольной группы и группы раннего РЖ ($p_{1-2} = 0,02$; $p_{1-3} = 0,01$). При раннем РЖ происходило снижение максимальной интенсивности спонтанной и индуцированной ХЛ моноцитов относительно контрольной группы ($p_{2-3} = 0,01$; $p_{2-3} = 0,003$). При изучении фагоцитарной активности моноцитов у больных ХАГ и РЖ происходило снижение количества фагоцитирующих моноцитов относительно контрольной группы.

При изучении показателей моноцитов было выявлено, что при снижении спонтанной ХЛ от 454 у.е. и ниже, индуцированной ХЛ от 1186 у.е.

Таблица 1. Показатели фагоцитарного звена иммунитета у больных ХАГ и РЖ по сравнению с контрольной группой

Table 1. Parameters for phagocytic arm of immunity in patients with chronic atrophic gastritis and gastric cancer compared with control group

Показатели Indicators	Контрольная группа Control group n = 104	Больные ХАГ Patients with CAG n = 97	Больные РЖ Patients with GC n = 98
I_{\max} спонт. ХЛ (у.е.) нейтрофилов I_{\max} neutrophil spont. CL (a.u.)	19 133 [3054–27 134]	22 083 [3047–41 528] $p_{1-2} = 0,03$	17 825 [15 789–17 831] $p_{1-3} = 0,03$; $p_{2-3} = 0,03$
I_{\max} инд. ХЛ (у.е.) нейтрофилов I_{\max} neutrophil induced CL (a.u.)	34 940 [10 488–41 588]	50 231 [21 341–71 041] $p_{1-2} = 0,02$	24 987 [17 345–30 000] $p_{1-3} = 0,04$; $p_{2-3} = 0,04$
Гранулоцитарный фагоцитоз Granulocytic phagocytosis	75±5%	56±7% $p_{1-2} = 0,02$	30±6% $p_{1-3} = 0,01$; $p_{2-3} = 0,03$
I_{\max} спонт. ХЛ (у.е.) моноцитов I_{\max} monocyte spont. CL (a.u.)	2631 [1100–3143]	5123 [5732–13 456] $p_{1-2} = 0,02$	419 [276–454] $p_{1-3} = 0,01$; $p_{2-3} = 0,01$
I_{\max} инд. ХЛ (у.е.) моноцитов I_{\max} monocyte induced CL (a.u.)	7983 [4789–11345]	11 985 [8932–16 789] $p_{1-2} = 0,03$	962 [785–1186] $p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} = 0,003$
Моноцитарный фагоцитоз Monocytic phagocytosis	83±7%	58±9% $p_{1-2} = 0,03$	29±5% $p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} = 0,003$

Примечание. p_{1-2} — статистически значимые различия между группой больных ХАГ и контрольной группой, p_{1-3} — статистически значимые различия между группой больных РЖ и контрольной группой, p_{2-3} — статистически значимые различия между группой больных ХАГ и группой больных РЖ.

Note. p_{1-2} — significant differences between the group of CAG patients and control group, p_{1-3} — significant differences between the group of patients with GC and control group, p_{2-3} — significant differences between the group of patients with CAG and the group of patients with GC.

и ниже у пациентов в нашем исследовании диагностировался ранний РЖ. Фагоцитарная активность моноцитов при раннем РЖ составляла 34% и ниже. Проведенное исследование обнаружило снижение эффективности иммунных реакций неспецифического звена иммунитета при раннем РЖ.

При исследовании перекисного окисления липидов и факторов системы антиоксидантной защиты у пациентов с ХАГ и РЖ было выявлено повышение уровня малонового диальдегида (MDA) по сравнению с контрольной группой ($p_{1-2} = 0,03$; $p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} = 0,001$) (табл. 2). У больных РЖ происходило снижение активности фермента каталазы (CAT) по сравнению с группой больных ХАГ и контрольной группой ($p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} = 0,001$). У больных ХАГ происходило снижение уровня глутатионпероксидазы (GPO) по сравнению с контрольной группой ($p_{1-2} = 0,04$). У больных ранним РЖ обнаруживалось увеличение активности фермента GPO относительно контрольной группы и больных ХАГ.

Нами были предложены коэффициенты для оценки факторов системы АОЗ у пациентов: коэффициент отношения активности фермента супероксиддисмутазы к каталазе (SOD/CAT) и коэффициент отношения активности фермента супероксиддисмутазы к глутатионпероксидазе (SOD/GPO). Предложенный коэффициент отношения активности фермента супероксиддисмутазы к каталазе (SOD/CAT) был 4,25 у.е. и выше у больных ранним РЖ. Коэффициент отношения активности фермента супероксиддисмута-

зы к глутатионпероксидазе (SOD/GPO) показал значения 2,8 у.е. и ниже у больных ранним РЖ.

Все пороговые значения максимальной интенсивности спонтанной ($I_{\text{спонт.}}$) и индуцированной хемилюминесценции ($I_{\text{индуц.}}$) нейтрофилов и моноцитов, показатели гранулоцитарного и моноцитарного фагоцитоза, малонового диальдегида (MDA), коэффициенты отношения активности фермента супероксиддисмутазы к глутатионпероксидазе (SOD/CAT), супероксиддисмутазы к глутатионпероксидазе (SOD/GPO) были получены опытным путем на основании анализа уровней исследуемых показателей у больных ХАГ и ранним РЖ относительно контрольной группы:

- $I_{\text{спонт.}}$ (нейтрофилы) — 17825 у.е. и менее ОШ = 3,2 (95% ДИ = 1,27–27,3; $p_{1-2} = 0,001$);
- $I_{\text{спонт.}}$ (моноциты) — 419 у.е. и менее ОШ = 2,2 (95% ДИ = 2,34–19,8; $p_{1-2} = 0,0013$);
- $I_{\text{индуц.}}$ (нейтрофилы) — 24987 у.е. и менее ОШ = 1,7 (95% ДИ = 2,5–12,6; $p_{1-2} = 0,0045$);
- $I_{\text{индуц.}}$ (моноциты) — 962 у.е. и менее ОШ = 4,3 (95% ДИ = 4,6–15,3; $p_{1-2} = 0,008$);
- MDA — 45,3 мкмоль/1 г белка и более ОШ = 5,1 (95% ДИ = 1,72–53,3; $p_{1-2} = 0,0017$);
- SOD/CAT — 4,25 и более ОШ = 1,9 (95% ДИ = 2,57–9,12; $p_{1-2} = 0,005$);
- SOD/GPO — 2,8 и ниже ОШ = 2,2 (95% ДИ = 0,72–0,93; $p_{1-2} = 0,0023$);
- возраст (49–75 лет) ОШ = 3 (95% ДИ = 2,1–12,0; $p_{1-2} = 0,001$);
- наличие сопутствующих заболеваний ОШ = 4,2 (95% ДИ = 2,5–12,3; $p_{1-2} = 0,001$).

Таблица 2. Показатели конечных продуктов липопероксидации и активности ферментов антиоксидантной защиты у больных ХАГ и РЖ в сравнении с контрольной группой

Table 2. Indicators of the end products of lipid peroxidation and the activity of antioxidant enzymes in patients with chronic atrophic gastritis and gastric cancer compared with the control group

Показатели Indicators	Контрольная группа Control group n = 104	Больные ХАГ Patients with CAG n = 97	Больные РЖ Patients with GC n = 98
MDA, мкмоль/1 г белка MDA, $\mu\text{mol}/1 \text{ g protein}$	1,6 [0,96–2,24]	5,35 [4,1–15,3] $p_{1-2} = 0,03$	64,7 [45,3–135,3] $p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} = 0,001$
SOD, ед/мин/1 г белка SOD, $\text{u}/\text{min}/1 \text{ g protein}$	204,41 [151,05–250,3]	243,4 [161–269,8]	286,1 [195,4–290,5]
CAT, мкмоль/с/1 г белка CAT, $\mu\text{mol}/\text{s}/1 \text{ g protein}$	115,4 [0,16–0,49]	95,3 [0,1–0,31]	63,6 [41,2–68,3] $p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} = 0,001$
GPO, мкмоль/с/1 г белка GPO, $\mu\text{mol}/\text{s}/1 \text{ g protein}$	49,1 [81,19–162,38]	74,1 [70,1–104,05] $p_{1-2} = 0,04$	68,1 [61,6–70,3] $p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} = 0,001$
SOD/CAT	$\leq 1,77$	2,55 \pm 1,25 $p_{1-2} = 0,04$	$\geq 4,25$ $p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} = 0,03$
SOD/GPO	$\geq 4,15$	3,28 \pm 0,42 $p_{1-2} = 0,01$	$\leq 2,8$ $p_{1-3} = 0,001$; $p_{2-3} = 0,04$

Примечание. p_{1-2} — статистически значимые различия между группой больных ХАГ и контрольной группой, p_{1-3} — статистически значимые различия между группой больных РЖ и контрольной группой, p_{2-3} — статистически значимые различия между группой больных ХАГ и группой больных РЖ.

Note. p_{1-2} — significant differences between the group of CAG patients and control group, p_{1-3} — significant differences between the group of patients with GC and control group, p_{2-3} — significant differences between the group of patients with CAG and the group of patients with GC.

Обсуждение

Таким образом, у больных ранним РЖ выявленные изменения, вероятно, связаны с инфицированием *H. pylori* и ее влиянием на слизистую оболочку желудка. Производя для своего метаболизма множество ферментов, микроорганизм запускает гистодеструктивные процессы в слизистой оболочке желудка, и тем самым доказывает свою вирулентность и канцерогенность. Патогенность *H. pylori* обусловлена ее низкой восприимчивостью к антибиотикотерапии [8, 18]. Неэффективный иммунный ответ сохраняет *H. pylori* в слизистой оболочке желудка.

При исследовании ПОЛ и факторов системы АОЗ у пациентов с ХАГ и РЖ было выявлено повышение уровня малонового диальдегида (MDA). У больных РЖ происходило снижение активности фермента каталазы (CAT). У больных ХАГ происходило снижение содержания глутатионпероксидазы (GPO). У больных ранним РЖ обнаруживалось увеличение активности фермента GPO относительно контрольной группы и больных ХАГ.

Предложенный коэффициент отношения активности фермента супероксиддисмутазы к каталазе (SOD/CAT) был 4,25 у.е. и выше у больных ранним РЖ, что свидетельствует о высокой активности фермента супероксиддисмутазы и снижении активности фермента каталазы по мере прогрессирования заболевания. Оставшиеся в реакции супероксиддисмутазы пероксиды не инактивируются недостаточным количеством каталазы и оказывают токсическое и разрушительное действие на энтероциты слизистой оболочки желудка [5]. Коэффициент отношения активности фермента супероксиддисмутазы к глутатионпероксидазе (SOD/GPO) показал значения 2,8 у.е. и ниже у больных ран-

ним РЖ, что указывает на высокую активность обоих ферментов: супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы. Высокая активность глутатионпероксидазы, с одной стороны, вероятно, обусловлена нарастанием токсических проявлений опухоли, с другой стороны, ряд авторов отмечают высокую активность данного фермента при нарастании резистентности опухоли к химиотерапии [2, 3].

Заключение

Проведенное нами исследование показало значимость следующих параметров: максимальной интенсивности спонтанной ($I_{\text{спонт}}$) и индуцированной ХЛ ($I_{\text{индуц.}}$) нейтрофилов и моноцитов, показателей гранулоцитарного и моноцитарного фагоцитоза, малонового диальдегида (MDA), коэффициента отношения активности фермента супероксиддисмутазы к глутатионпероксидазе (SOD/CAT), коэффициент отношения супероксиддисмутазы к глутатионпероксидазе (SOD/GPO) в диагностике раннего РЖ. Используя пороговые значения предложенных критериев в скрининге взрослого населения, можно сформировать группу высокого риска развития раннего РЖ и добиться снижения показателей смертности и инвалидизации населения Красноярского края, а также подобрать более персонализированную терапию для пациентов, находящихся в группе высокого риска развития раннего РЖ.

Проект «Разработка и внедрение программного комплекса скрининга и ранней диагностики РЖ по показателям иммунной, прооксидантной и антиоксидантной систем для снижения показателей смертности и инвалидизации населения» проведен при поддержке Красноярского краевого фонда науки.

Список литературы/References

1. Баранская Е.К., Ивашкин В.Т. Клинический спектр предраковой патологии желудка // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2002. № 3. С. 7–14. [Baranskaya E.K., Ivashkin V.T. Clinical spectrum of gastric precancerous pathology. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* = *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2002, no. 3, pp. 7–14. (In Russ.)]
2. Борунов Е.В., Смирнова Л.П., Щепеткин И.А. Высокая активность антиоксидательных ферментов как фактор избегания контроля иммунной системы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1989. Т. 4. С. 41–43. [Borunov E.V., Smirnova L.P., Shchetkin I.A. High activity of antioxidant enzymes as a factor in avoiding control of the immune system. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny* = *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 1989, vol. 4, pp. 41–43. (In Russ.)]
3. Ланкин В.З., Поляков В.М., Гуревич С.М. Метаболизм перекисей липидов и его регуляция в процессе роста трансплантируемых и индуцированных химическими канцерогенами злокачественных опухолей // Липиды: структура, биосинтез, превращения и функции. М.: Наука, 1977. С. 93–103. [Lankin V.Z., Polyakov V.M., Gurevich S.M. Lipid peroxide metabolism and its regulation during the growth of transplanted and chemical carcinogen-induced malignant tumors. In: *Lipids: structure, biosynthesis, transformations and functions*. Moscow: Science, 1977, pp. 93–103. (In Russ.)]
4. Пасечников В.Д., Чуков С.З. Эпидемиология рака желудка. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2002. № 3. С. 18–26. [Pasechnikov V.D., Chukov S.Z. Epidemiology of stomach cancer. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* = *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2002, vol. 3, pp. 18–26. (In Russ.)]

5. Пушкина Т.А., Токаев Э.С., Попова Т.С., Бородин Е.Н. Супероксиддисмутаза в составе антиоксидантной терапии: состояние вопроса и перспективы (обзор литературы). Журнал им. Н.В. Склифосовского. 2016. № 4. С. 42–47. [Pushkina T.A., Tokayev E.S., Popova T.S., Borodina E.N. Superoxide dismutase as part of antioxidant therapy: state of the art and prospects (literature review). *Zhurnal imeni N.V. Sklifosovskogo = Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*, 2016, no. 4, pp. 42–47. (In Russ.)]
6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета статистических программ Statistica. Москва: Медиа Сфера, 2006. 312 с. [Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application of the statistical software package Statistica. Moscow: Media Sphere, 2006. 312 p. (In Russ.)]
7. Allum W.H., Powell D.J., McConkey C.C., Fielding J.W. Gastric cancer: a 25 year review. *Brit. J. Surg.*, 1989, vol. 76, pp. 535–540. doi: 10.1002/bjs.1800760604
8. Castro-Fernandez M., Vargas-Romero J. Infection with *Helicobacter pylori*. Prevalence, research and impact of antibiotic resistance. *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, 2009, vol. 101, no. 11, pp. 743–756. doi: 10.4321/s1130-01082009001100001
9. Choi M.G., Lee J.H., Park K.J., Yang H.K., Park J.G., Lee K.U., Choe K.J., Kim J.P. Chronological changes of clinicopathologic features in gastric cancer. *J. Korean. Surg. Soc.*, 1999, vol. 57, pp. 514–522.
10. Correa P. Chronic gastritis as a cancer precursor. *Scand. J. Gastroenterol.*, 1984, vol. 104, pp. 131–136.
11. Correa P., Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 2007, vol. 133, no. 2, pp. 659–672. doi: 10.1053/j.gastro.2007.06.026
12. Fuchs C., Mayer R. Gastric Carcinoma. *N. Engl. J. Med.*, 1995, vol. 333, no. 1, pp. 32–41. doi: 10.1056/NEJM199507063330107
13. Jemal A., Siegel R., Ward E., Murray T., Xu J., Thun M.J. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J. Clin.*, 2007, vol. 57, no. 1, pp. 43–66. doi: 10.3322/canjclin.57.1.43
14. Karpel M.S., Kelsen D.P., Tepper J.E. Cancer of the stomach. In: *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005, pp. 791–814.
15. Kato M., Asaka M. Recent development of gastric cancer prevention. *Jpn J. Clin. Oncol.*, 2012, vol. 42, no. 11, pp. 987–994. doi: 10.1093/jjco/hys151
16. Tsukuma H., Oshima A., Nakahara H., Morii T. Natural history of early gastric cancer: a non-concurrent, long term, follow up study. *Gut*, 2000, vol. 47, no. 5, pp. 618–621. doi: 10.1136/gut.47.5.618
17. Uemura N., Okamoto S., Yamamoto S., Matsumura N., Yamaguchi S., Yamakido M., Taniyama K., Sasaki N., Schlemper R.J. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2001, vol. 345, no. 11, pp. 784–789. doi: 10.1056/NEJMoa001999
18. Wu W., Yang Y., Sun G. Recent insights into antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* eradication. *Gastroenterol. Res. Pract.*, 2012, vol. 2012: 723183. doi: 10.1155/2012/723183
19. Yamagata H., Kiyohara Y., Aoyagi K., Kato I., Iwamoto H., Nakayama K., Shimizu H., Tanizaki Y., Arima H., Shinohara N., Kondo H., Matsumoto T., Fujishima M. Impact of *Helicobacter pylori* infection on gastric cancer incidence in a general Japanese population. *Arch. Intern. Med.*, 2000, vol. 160, no. 13, pp. 1962–1968. doi: 10.1001/archinte.160.13.196

Авторы:

Смирнова О.В., д.м.н., доцент, зав. лабораторией клинической патофизиологии ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Цуканов В.В., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник клинического отделения патологии пищеварительной системы взрослых и детей ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Синяков А.А., к.б.н., научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Елманова Н.Г., младший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Москаленко О.Л., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Овчаренко Е.С., младший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия.

Authors:

Smirnova O.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head of the Laboratory of Clinical Pathophysiology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Tsukanov V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head Researcher, Clinical Department of Adults and Children Digestive System Pathology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Sinyakov A.A., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Elmanova N.G., Junior Researcher, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Moskalenko O.L., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Ovcharenko E.S., Junior Researcher, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Krasnoyarsk Research Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МОНОЦИТОЗА ПРИ ЛЕЧЕНИИ СРЕДНЕТЯЖЕЛЫХ ФОРМ COVID-19

М.И. Шперлинг¹, Е.А. Шперлинг³, А.В. Ковалев¹, А.А. Власов², А.С. Поляков¹,
Я.А. Носков¹, А.Д. Морозов¹, В.С. Мерзляков¹, Д.П. Звягинцев¹, В.В. Тишко¹

¹ ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ 33-й Центральный научно-исследовательский испытательный институт Минобороны России, г. Вольск-18, Россия

³ ГБУЗ Детская городская поликлиника № 68, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Несмотря на относительно редкое присоединение бактериальной инфекции, лечение COVID-19-ассоциированной пневмонии в большинстве случаев сопровождается эмпирическим назначением антибактериальной терапии. Также возникновение лейкоцитоза в ответ на терапию глюкокортикостероидами (ГКС) часто воспринимается как присоединение бактериальной флоры. Поэтому актуальной задачей является правильная интерпретация лейкоцитоза в ответ на терапию ГКС при COVID-19. Целью работы стало изучение динамики количества лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов венозной крови у больных среднетяжелой формой COVID-19 при системном применении ГКС. Были проанализированы показатели клинического анализа крови 154 пациентов временного инфекционного госпиталя в парке «Патриот» Московской области с подтвержденным диагнозом «COVID-19, среднетяжелое течение». Группу сравнения (I группа) составили 128 пациентов без клинических признаков бактериальной инфекции и лейкоцитоза при поступлении, которым была назначена терапия ГКС. Группу контроля (II группа) составили 26 человек, у которых при поступлении были выявлены признаки бактериальной инфекции: кашель с гнойной мокротой в сочетании с нейтрофильным лейкоцитозом. Оценивали динамику клеточного состава венозной крови у пациентов I группы перед началом, через 3 и 6 дней от начала терапии ГКС. Также провели сравнение количества лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов у пациентов с развившимся лейкоцитозом из I группы и больными II группы. В результате исследования было выявлено увеличение количества лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов у пациентов группы сравнения на 3 и 6 день терапии ГКС. У всех пациентов с развившимся лейкоцитозом после приема ГКС (103 человека) отсутствовали клинические признаки бактериальной инфекции. У пациентов с развившимся лейкоцитозом из I группы было выявлено увеличение количества моноцитов (0,90 (0,84; 1,02) на 3-й день ГКС и 0,94 (0,87; 1,26) на 6-й день ГКС) по сравнению со II группой (0,61 [0,50; 0,71]), $p < 0,001$. При этом количество лейкоцитов и нейтрофилов между группами не различалось. Таким образом, развитие лейкоцитоза с наличием моноцитоза в ответ на терапию ГКС может являться дифференциально-диагностическим критерием между глюкокортикоид-индуцированным лейкоцитозом и присоединением бактериальной инфекции. Данная особенность может учитываться в процессе принятия решения о назначении антибактериальной терапии при лечении среднетяжелых форм COVID-19.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, COVID-19, моноцитоз, ГКС-индуцированный лейкоцитоз, бактериальные осложнения COVID-19, глюкокортикостероиды.

Адрес для переписки:

Шперлинг Максим Игоревич
195027, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6Ж,
ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова
Минобороны РФ.
Тел.: 8 911 817-00-34. E-mail: mersisaid@yandex.ru

Contacts:

Maksim I. Shperling
195027, Russian Federation, St. Petersburg, Akademika
Lebedeva str., 6Zh, S.M. Kirov Military Medical Academy
of the Ministry of Defense of Russia.
Phone: +7 911 817-00-34. E-mail: mersisaid@yandex.ru

Для цитирования:

Шперлинг М.И., Шперлинг Е.А., Ковалев А.В., Власов А.А., Поляков А.С.,
Носков Я.А., Морозов А.Д., Мерзляков В.С., Звягинцев Д.П., Тишко В.В.
Дифференциально-диагностическая значимость моноцитоза при
лечении среднетяжелых форм COVID-19 // Инфекция и иммунитет.
2022. Т. 12, № 1. С. 120–126. doi: 10.15789/2220-7619-ADA-1681

Citation:

Shperling M.I., Shperling E.A., Kovalev A.V., Vlasov A.A., Polyakov A.S.,
Noskov Ya.A., Morozov A.D., Merzlyakov V.S., Zvyagintsev D.P., Tishko V.V.
A differential and diagnostic significance of monocytosis in treatment
of moderate COVID-19 forms // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 120–126. doi: 10.15789/2220-
7619-ADA-1681

A DIFFERENTIAL AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF MONOCYTOSIS IN TREATMENT OF MODERATE COVID-19 FORMS

Shperling M.I.^a, Shperling E.A.^a, Kovalev A.V.^a, Vlasov A.A.^b, Polyakov A.S.^a, Noskov Ya.A.^a, Morozov A.D.^a, Merzlyakov V.S.^a, Zvyagintsev D.P.^a, Tishko V.V.^a

^a S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

^b 33rd Central Research Test Institute of the Ministry of Defense of Russia, Volsk-18, Russian Federation

^c Children's Polyclinic No. 68, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Despite the relatively rare comorbidity with bacterial infections, in most cases treatment of COVID-19-associated pneumonia is accompanied by empirical antibiotic therapy. In addition, the occurrence of leukocytosis in response to glucocorticosteroid (GCS) therapy is often perceived as comorbid bacterial flora and is a reason for initiating antibiotic therapy. Therefore, an urgent task is to properly interpret leukocytosis in response to GCS therapy in COVID-19. The aim of the study was to examine dynamic changes in count of venous blood leukocytes, neutrophils and monocytes in patients with moderate COVID-19 after systemic GCS. We analyzed parameters of complete blood count in 154 patients with verified moderate COVID-19, at the Temporary Infectious Diseases Hospital, the "Patriot" Park of the Moscow Region. The comparison group (I) consisted of 128 patients without clinical signs of bacterial infection and leukocytosis observed on admission, who were prescribed GCS therapy. The control group (II) consisted of 26 subjects showing on admission signs of bacterial infection — a cough with purulent sputum combined with neutrophilic leukocytosis. The dynamics in venous blood cell count was assessed in group I of patients before the onset, 3 and 6 days after beginning GCS therapy. We also compared count of leukocytes, neutrophils and monocytes between patients with developed leukocytosis in group I vs. group II. As a result, an increased count of leukocytes, neutrophils and monocytes was revealed according to assessing complete blood count test in patients from group I on days 3 and 6 of ongoing GCS therapy. All patients with developed leukocytosis after GCS admission (103 subjects) had no clinical signs of bacterial infection. Patients with developed leukocytosis from group I had increased count of monocytes (0.90 (0.84; 1.02) on day 3 after GCS onset and 0.94 (0.87; 1.26) on day 6 of GCS) compared with group II (0.61 [0.50; 0.71]), $p < 0.001$. The inter-group count of leukocytes and neutrophils did not differ. Monocytosis after GCS therapy may serve as a differential diagnostic criterion to distinguish between glucocorticoid-induced leukocytosis and comorbid bacterial infection. This may be one of the factors influencing a decision to prescribe antibiotic therapy.

Key words: coronavirus disease, COVID-19, monocytosis, GCS-induced leukocytosis, bacterial complications of COVID-19, glucocorticosteroids.

Введение

Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, в 19% случаев осложняется специфической вирусной пневмонией, требующей госпитализации и респираторной поддержки [6]. Метаанализ, проведенный в мае 2020 г., показал, что бактериальные осложнения при коронавирусной инфекции встречаются на порядок реже, чем при гриппе, и развиваются лишь у 7% госпитализированных больных [8, 15]. При этом более чем в 90% случаев пациентам с COVID-19 назначается эмпирическая антибактериальная терапия [3], что при отсутствии соответствующих показаний является одним из факторов риска неблагоприятного исхода [4].

Согласно актуальным клиническим рекомендациям, убедительными признаками присоединения бактериальной инфекции, помимо субъективной оценки характера мокроты, следует считать повышение уровня прокальцитонина $> 0,5$ нг/мл или содержания лейкоцитов $> 10 \times 10^9$ /л [3]. Однако при развитии бактериальных осложнений на фоне COVID-19 повышение уровня прокальцитонина отмечается далеко не всегда [14], а нейтрофильный лейко-

цитоз может развиваться в связи с применением в терапии новой коронавирусной инфекции глюкокортикостероидов (ГКС) [12]. Оба этих обстоятельства затрудняют своевременное выявление бактериальных осложнений [1]. ГКС увеличивают количество нейтрофилов в периферической крови за счет усиления их продукции костным мозгом, перераспределения пулов в пользу циркулирующих клеток, а также задержки выхода нейтрофилов в очаг воспаления [5]. Также имеются данные, что терапия ГКС может способствовать изменению уровня циркулирующих моноцитов [11]. В настоящий момент остается неизученным вопрос изменения количества моноцитов периферической крови в ответ на терапию ГКС при COVID-19, что может представлять особенный интерес ввиду роли синдрома активации макрофагов (САМ) в патогенезе коронавирусной пневмонии [11]. Клинический анализ крови — наиболее доступный в рутинной клинической практике и достаточно эффективный для прогнозирования форм и исходов COVID-19 лабораторный тест [2]. Выявление клинической и прогностической значимости оценки абсолютного содержания моноцитов может существенно повысить эффективность диффе-

рениальной диагностики нейтрофилеза, обусловленного бактериальной коинфекцией или применением ГКС.

Цель исследования — изучить динамику изменений количества лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов венозной крови у больных среднетяжелой формой COVID-19 при системном применении ГКС, а также определить различия по данным показателям между группой пациентов с косвенными признаками бактериальной инфекции и группой пациентов, получающих ГКС.

Материалы и методы

Проанализированы результаты лечения 154 пациентов временного инфекционного госпиталя в парке «Патриот» Московской области с подтвержденным диагнозом «COVID-19, среднетяжелое течение» (коды МКБ: U07.1, U07.2) за период с ноября 2020 по январь 2021 г. Анализировали анамнез заболевания, клинические проявления инфекции, а также показатели клинического анализа крови: абсолютное количество лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов ($\times 10^9/\text{л}$). Лабораторные исследования выполнялись на автоматических гематологических анализаторах ABX Yumizen H500 (Франция) с разделением лейкоцитов на 5 популяций. Критериями включения пациентов являлись следующие: среднетяжелое течение (балл по шкале NEWS 5–7, процент поражения легких по данным компьютерной томографии — до 50%, исходный уровень СРБ при поступлении — от 30 мг/л), возраст до 85 лет, отсутствие приема системных глюкокортикостероидов (ГКС) на амбулаторном этапе, день заболевания при поступлении 8–12. Пациенты были разделены на 2 группы. Группу сравнения (I группа) составили 128 пациентов без клинических признаков бактериальной инфекции и лейкоцитоза при поступлении, которым была назначена системная противовоспалительная терапия (дексаметазон 20 мг/сут или преднизолон 150 мг/сут в/в) на 3 дня с последующим постепенным снижением суточной дозировки на 4 или 30 мг/сут соответственно в течение 4 дней. В группу контроля (II группа) было включено 26 человек, не получавших антибактериальную терапию на амбулаторном этапе, у которых помимо симптомов коронавирусной инфекции при поступлении были выявлены признаки бактериальной инфекции — кашель с гнойной мокротой в сочетании с нейтрофильным лейкоцитозом.

На первом этапе оценивали изменения клеточного состава венозной крови у пациентов на фоне терапии ГКС. Для этого было проведено сравнение показателей клинического анали-

за крови (содержание лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов) внутри I группы перед началом лечения, через 3 и 6 дней от начала терапии ГКС. На втором этапе I группа была разделена на 3 подгруппы: Ia — пациенты с развившимся лейкоцитозом на 3-й день терапии ГКС; Ib — пациенты с развившимся лейкоцитозом на 6-й день терапии ГКС; Ic — пациенты без лейкоцитоза на 3-й и 6-й день терапии ГКС. Было проведено сравнение количества лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов между группами Ia, Ib и Ic.

Для статистической обработки были использованы пакеты программного обеспечения Statistica 12, Microsoft Office Excel 2016, Past 3, IBM SPSS Statistics 26. Численные значения анализируемых показателей каждой группы при соответствии закону нормального распределения, установленному на основании расчета W-критерия Шапиро–Уилка, представляли в виде средней арифметической (M) и стандартного отклонения (σ), в противном случае — в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q_{25} ; Q_{75}). Межгрупповые различия определяли с помощью U-критерия Манна–Уитни. Для множественного сравнения связанных переменных использовали ранговый дисперсионный анализ Фридмана, несвязанных — критерий Краскела–Уоллиса. При наличии значимых различий в результате множественного сравнения проводили парные сравнения с помощью U-критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. За критический уровень значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты

У 11 пациентов за период наблюдения было отмечено ухудшение течения заболевания, вследствие чего данные пациенты были исключены из статистического анализа. Исследуемые группы не различались по возрастному и половому составу, сопутствующим заболеваниям (табл. 1).

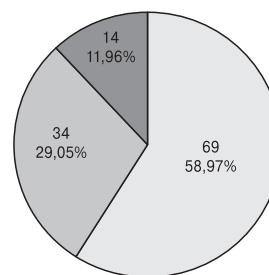
На 3-й день после начала системной противовоспалительной терапии в виде ГКС в группе пациентов без исходных признаков бактериальной инфекции и лейкоцитоза (I группа) отмечалось появление лейкоцитоза у 69 пациентов с положительной клинической и лабораторной динамикой из 117 обследованных (58,97%), на 6-й день — еще у 34 пациентов (29,05%). Важно также отметить, что у всех 103 пациентов с лейкоцитозом после ГКС отсутствовали клинические признаки бактериальной инфекции (гнойная мокрота, повышение температуры тела) (рис. 1).

При сравнении показателей общего анализа крови данных 117 больных I группы перед при-

Таблица 1. Характеристика групп пациентов

Table 1. Characteristics of patient groups

Показатель Indicator	I группа (n = 117) Group I (n = 117)	II группа (n = 26) Group II (n = 26)	P
Возраст, лет Age, years	60,4 (53,1; 63,9)	64,2 (58,5; 66,7)	0,71
Пол, мужчины, п/% Sex, male, n/%	56/47,9%	13/50%	0,63
Пол, женщины, п/% Sex, female, n/%	61/52,1%	13/50%	
АГ, абс./% Arterial hypertension, abs. value/%	74/63,2%	18/69,2%	0,75
СД, абс./% DM, abs. value/%	31/26,5%	7/26,9%	0,60
СРБ, мг/л CRP, mg/L	54,8 (33,17; 88,51)	64,46 (44,47; 101,05)	0,21



- Появление лейкоцитоза к 3 дню терапии ГКС
The appearance of leukocytosis by the 3rd day of GCS therapy
- Появление лейкоцитоза к 6 дню терапии ГКС
The appearance of leukocytosis by the 6th day of GCS therapy
- Лейкоцитоз не появился к 6 дню терапии ГКС
Leukocytosis did not appear by the 6th day of GCS therapy

Рисунок 1. Частота возникновения лейкоцитоза после начала терапии ГКС

Figure 1. The incidence of leukocytosis after starting GCS therapy

Таблица 2. Сравнение показателей клинического анализа крови пациентов I группы при поступлении, на 3-й и на 6-й день терапии ГКС

Table 2. Comparison of the complete blood count in group I on admission, day 3 and 6 of GCS therapy

Показатель Indicator	До ГКС Before GCS Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	3 сутки Day 3 after GCS Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	6 сутки Day 6 after GCS Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Тест Фридмана Friedman test χ^2_R	Парные сравнения, p (с поправкой Бонферрони) Paired comparison tests (with Bonferroni post hoc test)		
	1	2	3		1-2	1-3	2-3
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Leukocytes, $\times 10^9/\text{L}$	6,47 (5,27;7,99)	10,31 (7,57;12,22)	10,21 (8,6;12,11)	108,013	< 0,001	< 0,001	0,07
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$ Neutrophils, $\times 10^9/\text{L}$	4,55 (3,10;5,95)	7,50 (5,35;9,87)	7,70 (6,56;9,53)	121,681	< 0,001	< 0,001	0,14
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$ Monocytes, $\times 10^9/\text{L}$	0,51 (0,38;0,67)	0,85 (0,65;0,95)	0,82 (0,72;0,99)	107,439	< 0,001	< 0,001	0,11

Таблица 3. Сравнение показателей клинического анализа крови пациентов Ia, Ib и II группы

Table 3. Comparison of complete blood count from patients in groups Ia, Ib and II

Показатель Indicator	Группа Ia (лейкоцитоз на 3 сутки ГКС, n = 69) Group Ia (leukocytosis on 3rd day after GCS, n = 69) Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Группа Ib (лейкоцитоз на 6 сутки ГКС, n = 34) Group Ib (leukocytosis on 6st day after GCS, n = 34) Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Группа II, n = 26 Group II, n = 26 Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	H (Краскела- Уоллиса) Kruskal-Wallis H test	P
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Leukocytes, $\times 10^9/\text{L}$	11,48 (10,32; 13,94)	10,74 (10,24; 12,22)	12,11 (10,72; 13,69)	2,527	p = 0,09
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$ Neutrophils, $\times 10^9/\text{L}$	9,19 (7,67; 11,12)	8,71 (7,20; 10,43)	9,38 (8,84; 10,41)	4,675	p = 0,28
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$ Monocytes, $\times 10^9/\text{L}$	0,90 (0,84; 1,02)	0,94 (0,87; 1,26)	0,61 (0,50; 0,71)	48,303	p < 0,001

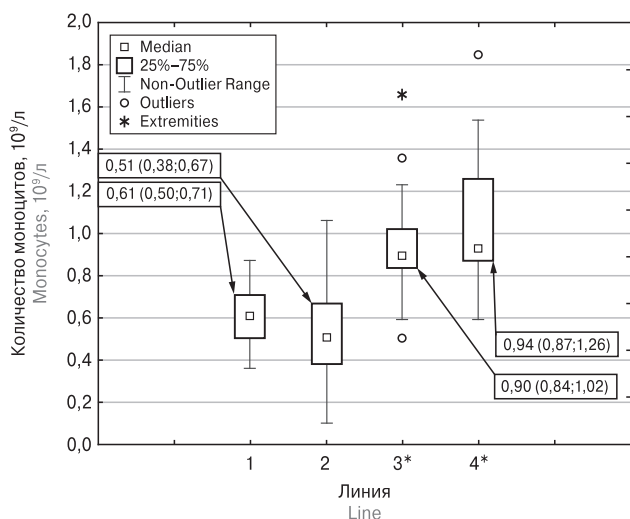


Рисунок 2. Сравнение количества моноцитов в группе контроля, в группе сравнения до начала терапии ГКС и в группе сравнения с развившимся лейкоцитозом на 3-й и 6-й день терапии ГКС

Figure 2. Comparison of monocyte count in control group vs. comparison group before starting GCS therapy and in comparison group with developed leukocytosis on day 3 and 6 of GCS therapy

Примечания. Линия 1 — группа контроля (II группа); 2 — группа сравнения до начала терапии ГКС (I группа); 3 — группа пациентов с развившимся лейкоцитозом на 3-й день терапии ГКС (группа Ia); 4 — группа пациентов с развившимся лейкоцитозом на 6-й день терапии ГКС (группа Ib). * — различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$).

Notes. Line 1 — control group (II); 2 — comparison group prior to starting GCS therapy (I group); 3 — a group of patients with developed leukocytosis on day 3 of GCS therapy (group Ia); 4 — a group of patients with developed leukocytosis on day 6 of GCS therapy (group Ib). * — the differences are significant while comparing with control group ($p < 0.001$).

менением и на 3-й день применения ГКС было выявлено статистически значимое увеличение количества лейкоцитов, нейтрофилов и моноцитов по данным клинического анализа крови. Аналогичная картина наблюдалась при сравнении вышеперечисленных лабораторных показателей перед началом и на 6-й день терапии. При этом следует отметить, что анализируемые показатели не различались среди пациентов на 3-й и 6-й день терапии ГКС (табл. 2).

Сравнение между группами Ia, Ib и II в одинаковые дни госпитализации не проводилось. Это связано с тем, что после появления лейкоцитоза ряду пациентов из сравниваемых групп была назначена антибактериальная терапия, что могло привести к искажению исследуемых показателей крови.

При сравнении показателей крови между группами Ia, Ib и II было установлено отсут-

ствие статистически значимых различий по количеству лейкоцитов и нейтрофилов (табл. 3).

Однако при сравнении между группами Ia, Ib и II было отмечено значительное различие в количестве моноцитов. Так, при исходно нормальном уровне моноцитов ($< 0,8 \times 10^9/\text{л}$) у пациентов с появлением лейкоцитоза как на 3-й, так и на 6-й день терапии ГКС отмечался моноцитоз — 0,90 (0,84; 1,02) и 0,94 (0,87; 1,26) соответственно, $p > 0,05$ (с поправкой Бонферрони). В группе контроля уровень моноцитов был значимо ниже, чем в группе сравнения, в обеих точках измерения и оставался в пределах нормы — 0,61 (0,50; 0,71), $p < 0,001$. Также примечательным является тот факт, что уровни моноцитов в I и II группе перед началом терапии ГКС не отличались ($p > 0,05$) (рис. 2).

Обсуждение

Согласно различным данным, терапии ГКС может сопутствовать как моноцитоз, так и моноцитопения [5], что, однако, не было изучено у пациентов с COVID-19. Согласно данным проведенного исследования, лейкоцитоз при системном применении ГКС у пациентов со среднетяжелой формой COVID-19 в подавляющем большинстве случаев сопровождался абсолютным моноцитозом. Увеличение количества моноцитов в периферической крови у пациентов с COVID-19 при приеме ГКС может быть обусловлено патофизиологическими особенностями течения данной инфекции. Развитие САМ подразумевает усиление активности моноцитов при COVID-19 в большей мере, чем при прочих иммуновоспалительных и инфекционных заболеваниях [7, 10]. В то же время тяжелые формы COVID-19 с выраженным САМ, как правило, сопровождаются моноцитопенией, что является одним из факторов неблагоприятного прогноза [11]. Данный факт можно интерпретировать как «моноцитопению потребления» ввиду стремительной миграции моноцитов в очаг воспаления. Применение системных ГКС в таком случае приводит как к торможению миграции моноцитов в очаг воспаления [13], так и к стимуляции выработки их противовоспалительного пула (M2-клеток) костным мозгом [5, 9]. Это может вызывать увеличение количества моноцитов в периферической крови. Таким образом, принимаемая во внимание отсутствие иных признаков бактериальной инфекции, нейтрофильный лейкоцитоз в сочетании с повышением абсолютного числа моноцитов в периферической крови при использовании ГКС может служить косвенным признаком эффективности терапии данными препаратами.

Следует отметить, что в проведенном исследовании применение ГКС ожидаемо сопровождалось появлением нейтрофильного лейкоцитоза спустя 3 и 6 дней от начала терапии у большинства пациентов группы сравнения [12]. На основании актуальных методических рекомендаций [3] подобные гематологические изменения часто ошибочно интерпретируются в пользу присоединения бактериальной инфекции и при отсутствии других признаков (нарастание лихорадки, повышение уровня прокальцитонина, появление гнойной мокроты и др.) приводят к необоснованному назначению антибактериальной терапии. В этих случаях анализ количества циркулирующих моноцитов может быть использован как дополнительный дифференциально-диагностический признак. Это объясняется наличием статистически значимого различия по количеству моноцитов при схожем уровне лейко-

цитов и нейтрофилов между группой пациентов с косвенными признаками бактериальной инфекции и группой пациентов, получающих ГКС, у которых иные признаки бактериальной инфекции отсутствовали.

Заключение

Моноцитоз, наблюдаемый у пациентов с лейкоцитозом при терапии глюкокортикоидами, может выступать дифференциально-диагностическим критерием между глюкокортикоид-индуцированным лейкоцитозом и присоединением бактериальной инфекции. Это может быть одним из факторов, влияющих на принятие решения о назначении антибактериальной терапии. Кроме того, в перспективе возможно исследование значимости оценки моноцитоза как критерия эффективности иммуносупрессивной терапии при COVID-19.

Список литературы/References

1. Зайцев А.А., Чернов С.А., Стец В.В., Паценко М.Б., Кудряшов О.И., Чернецов В.А., Крюков Е.В. Алгоритмы ведения пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 в стационаре: методические рекомендации // *Consilium Medicum*. 2020. Т. 22, № 11. С. 91–97. [Zaitsev A.A., Chernov S.A., Stets V.V., Patsenko M.B., Kudryashov O.I., Chernetsov V.A., Kryukov E.V. Algorithms for the management of patients with a new coronavirus infection COVID-19 in a hospital: guidelines. *Consilium Medicum*, 2020, vol. 22, no. 11, pp. 91–97. (In Russ.)] doi: 10.26442/20751753.2020.11.200520
2. Поляков А.С., Козлов К.В., Лобачев Д.Н., Демьяненко Н.Ю., Носков Я.А., Бондарчук С.В., Жданов К.В., Тыренко В.В. Прогностическое значение некоторых гематологических синдромов при инфекции, вызванной SARS-CoV-2 // *Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа*. 2020. Т. 6, № 3. С. 161–171. [Polyakov A.S., Kozlov K.V., Lobachev D.N., Demyanenko N.Yu., Noskov Ya.A., Bondarchuk S.V., Zhdanov K.V., Tyrenko V.V. Prognostic significance of some hematological syndromes in SARS-CoV-2 infection. *Gematologiya. Transfuziologiya. Vostochnaya Evropa = Hematology. Transfusiology. Eastern Europe*, 2020, vol. 6, no. 3, pp. 161–171. (In Russ.)] doi: 10.34883/PI.2020.6.2.001
3. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19: временные методические рекомендации. Версия 10 от 08.02.2021. Утверждено заместителем Министра здравоохранения РФ Е.Г. Камкиным. Минздрав РФ, 2021. 261 с. [Prevention, diagnosis, and treatment of new coronavirus infection COVID-19: temporary guidelines. Version 10 of 02.08.2021. Approved by the Deputy Minister of Health of the Russian Federation E.G. Kamkin. *Ministry of Health of the Russian Federation*, 2021. 261 p. (In Russ.)]
4. Crotty M.P., Akins R., Nguyen A., Slika R., Rahmanzadeh K., Wilson M.H., Dominguez E.A. Investigation of subsequent and co-infections associated with SARS-CoV-2 (COVID-19) in hospitalized patients. *medRxiv*, 2020, vol. 2. doi: 10.1101/2020.05.29.20117176
5. Ehrchen J.M., Roth J., Barczyk-Kahlert K. More than suppression: glucocorticoid action on monocytes and macrophages. *Front. Immunol.*, 2019, vol. 10: 2028. doi: 10.3389/fimmu.2019.02028
6. Epidemiology Working Group for NCIP Epidemic Response, Chinese Center for Disease Control and Prevention. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19). *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 2020, vol. 2, no. 8, pp. 113–122. doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.02.003
7. Gómez-Rial J., Rivero-Calle I., Salas A. Role of monocytes/macrophages in Covid-19 pathogenesis: implications for therapy. *Infect. Drug Resist.*, 2020, vol. 13, pp. 2485–2493. doi: 10.2147/IDR.S258639
8. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W.S. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect.*, 2020, vol. 81, no. 2, pp. 266–275. doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.046
9. Liu B., Dhanda A., Hirani S., Williams E.L., Sen H.N., Martinez Estrada F., Ling D., Thompson I., Casady M., Li Z., Si H., Tucker W., Wei L., Jawad S., Sura A., Dailey J., Hannes S., Chen P., Chien J.L., Gordon S., Lee R.W., Nussenblatt R.B. CD14⁺⁺CD16⁺ monocytes are enriched by glucocorticoid treatment and are functionally attenuated in driving effector T cell responses. *J. Immunol.*, 2015, vol. 194, no. 11, pp. 5150–5160. doi: 10.4049/jimmunol.1402409
10. Martinez F.O., Combes T.W., Orsenigo F., Gordon S. Monocyte activation in systemic COVID-19 infection: assay and rationale. *EBioMedicine*, 2020, vol. 59: 102964. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102964
11. Qin C., Zhou L., Hu Z., Zhang S., Yang S., Tao Y., Xie C., Ma K., Shang K., Wang W., Tian D.S. Dysregulation of immune response in patients with Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin. Infect. Dis.*, 2020, vol. 71, no. 15, pp. 762–768. doi: 10.1093/cid/cia248
12. Shoenfeld Y., Gurewich Y., Gallant L.A., Pinkhas J. Prednisone-induced leukocytosis. *Am. J. Med.*, 1981, vol. 71, no. 5, pp. 773–778. doi: 10.1016/0002-9343(81)90363-6

13. Solinas C., Perra L., Aiello M., Migliori E., Petrosillo N. A critical evaluation of glucocorticoids in the management of severe COVID-19. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2020, vol. 54, pp. 8–23. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.06.012
14. Vazzana N., Dipaola F., Ognibene S. Procalcitonin and secondary bacterial infections in COVID-19: association with disease severity and outcomes. *Acta Clin. Belg.*, 2020: 1-5. doi: 10.1080/17843286.2020.1824749
15. Youngs J., Wyncoll D., Hopkins P., Arnold A., Ball J., Bicanic T. Improving antibiotic stewardship in COVID-19: bacterial co-infection is less common than with influenza. *J. Infect.*, 2020, vol. 81, no. 3, pp. e55–e57. doi: 10.1016/j.jinf.2020.06.056

Авторы:

Шперлинг М.И., клинический ординатор по специальности «Терапия» ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Шперлинг Е.А., врач-педиатр ГБУЗ Детская городская поликлиника № 68, Санкт-Петербург, Россия;
Ковалев А.В., клинический ординатор по специальности «Терапия» ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Власов А.А., к.м.н., старший научный сотрудник ФГБУ 33-й Центральный научно-исследовательский испытательный институт Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия;
Поляков А.С., к.м.н., начальник гематологического отделения кафедры факультетской терапии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Носков Я.А., к.м.н., старший ординатор гематологического отделения кафедры факультетской терапии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Морозов А.Д., к.м.н., начальник кафедры оториноларингологии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Мерзляков В.С., курсант 5 курса факультета подготовки врачей ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Звягинцев Д.П., курсант 5 курса факультета подготовки врачей ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Тишко В.В., д.м.н., доцент, заместитель начальника кафедры факультетской терапии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Shperling M.I., Resident Physician in Therapy, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation;
Shperling E.A., Pediatrician, Children's Polyclinic No. 68, St. Petersburg, Russian Federation;
Kovalev A.V., Resident Physician in Therapy, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation;
Vlasov A.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation;
Polyakov A.S., PhD (Medicine), Head of the Hematology Department, Intermediate Level Therapy Department, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation;
Noskov Ya.A., PhD (Medicine), Senior Resident Physician, Hematology Department, Intermediate Level Therapy Department, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation;
Morozov A.D., PhD (Medicine), Head of the Otorhinolaryngology Department, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation;
Merzlyakov V.S., 5th Grade Military Student, Physician Training Faculty, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation;
Zvyagintsev D.P., 5th Grade Military Student, Physician Training Faculty, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation;
Tishko V.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Deputy Head of the Intermediate Level Therapy Department, S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 11.02.2021
 Принята к печати 21.11.2021

Received 11.02.2021
 Accepted 21.11.2021

ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ГРИППА НА УРОВЕНЬ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

В.З. Кривицкая, Е.В. Кузнецова, В.Г. Майорова, Е.Р. Петрова, А.А. Соминина,
Д.М. Даниленко

ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Для оценки влияния вакцинации на уровень гуморального популяционного противогриппозного иммунитета методом РТГА были проанализированы 2955 сывороток здоровых взрослых доноров, полученных из различных городов Российской Федерации в эпидсезоны 2019–2020 и 2020–2021 гг. Среди доноров 1057 человек были вакцинированы сезонной трехвалентной инактивированной вакциной. Значительно более высокие показатели гуморального противогриппозного иммунитета у привитых лиц по сравнению с невакцинированными (средние геометрические титры антител и доля серопозитивных лиц по отношению к вакцинным вирусам), полученные осенью 2019 и 2020 гг. (через 1–2 месяца после прививочных кампаний), свидетельствовали о положительном вкладе вакцинации в формирование коллективного иммунитета против гриппа В предэпидемические периоды. По прошествии эпидемии 2019–2020 гг., весной 2020 г. (через 6–7 месяцев после вакцинации), в группе привитых доноров уровни антител ко всем компонентам вакцины снизились в 2,6–3,5 раза по сравнению с предэпидемическим периодом осени 2019 г., опустившись значительно ниже защитного уровня (титр в РТГА < 1/40). При этом более не наблюдалось значимых различий между группами вакцинированных и невакцинированных лиц, что указывает на нестабильность поствакцинального противогриппозного гуморального иммунитета. Результатом может быть уменьшение невосприимчивой к гриппу прослойки работоспособного населения в преддверии нового эпидсезона. Помимо влияния вакцинации на состояние популяционного иммунитета взрослого населения России, в РТГА была оценена иммуногенность инактивированной трехвалентной сезонной вакцины по результатам анализа парных сывороток, полученных от 295 и 112 здоровых лиц различного возраста, привитых осенью 2019 г. и 2020 г. соответственно. Характер реакции на вакцину зависел от возраста. У детей 3–14 лет наблюдался более активный ответ по сравнению с лицами старшего возраста. Показана недостаточная иммуногенность вакцинных компонентов вирусов гриппа В. Через 1–1,5 месяца после вакцинации во всех возрастных группах средние геометрические титры антител к вирусам гриппа В были ниже (в 2–8 раз), чем к актуальным А(H1N1)pdm09-подобным штаммам и вирусам гриппа А(H3N2). Анализ иммуногенности вакцины показал статистически значимую обратную связь между уровнем предсуществующих штамм-специфичных антител, выявленных в крови

Адрес для переписки:

Кривицкая Вера Зорьевна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 15/17,
ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России.
Тел.: 8 (812) 499-15-29 (служебн.), 8 921 886-37-95 (моб.).
E-mail: vera.kriv@influenza.spb.ru

Contacts:

Vera Z. Krivitskaya
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Professora Popova str., 15/17, Smorodintsev Research Institute
of Influenza of the Ministry of Health of the Russian Federation.
Phone: +7 (812) 499-15-29 (office), +7 921 886-37-95 (mobile).
E-mail: vera.kriv@influenza.spb.ru

Для цитирования:

Кривицкая В.З., Кузнецова Е.В., Майорова В.Г., Петрова Е.Р.,
Соминина А.А., Даниленко Д.М. Влияние вакцинации против гриппа
на уровень специфического гуморального иммунитета здоровых лиц //
Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 127–141. doi: 10.15789/2220-
7619-IVI-1750

Citation:

Krivitskaya V.Z., Kuznetsova E.V., Maiorova V.G., Petrova E.R., Sominina A.A.,
Danilenko D.M. Influenza vaccination influencing level of specific humoral
immunity in healthy individuals // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 127–141. doi: 10.15789/2220-
7619-IVI-1750

на момент прививки, и образованием антител к соответствующему вакцинному вирусу через 1–1,5 месяца после вакцинации. Сероконверсии к каждому вакцинному компоненту значительно чаще наблюдали у лиц с низким исходным уровнем в крови антител к соответствующему вирусу.

Ключевые слова: вакцинация, антигриппозный иммунитет, популяционный иммунитет, реакция торможения гемагглютинации, инактивированная гриппозная вакцина, вакцинные штаммы.

INFLUENZA VACCINATION INFLUENCING LEVEL OF SPECIFIC HUMORAL IMMUNITY IN HEALTHY INDIVIDUALS

Krivitskaya V.Z., Kuznetsova E.V., Maiorova V.G., Petrova E.R., Sominina A.A., Danilenko D.M.

Smorodintsev Research Institute of Influenza, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. To assess an effect of vaccination on the level of humoral anti-influenza herd immunity, 2955 sera were collected and analyzed by HIT in the 2019–2020 and 2020–2021 epidemiological seasons. All sera were obtained from healthy adult donors residing in various cities of the Russian Federation. Among them, 1057 volunteers were vaccinated with seasonal influenza trivalent inactivated vaccine. Characteristics of humoral anti-influenza immunity (average geometric antibody titers and the proportion of individuals seropositive for the vaccine viruses) obtained in autumn 2019 and 2020 (1–2 months after vaccination) in vaccinated individuals vs. unvaccinated subjects were found to be markedly higher evidencing about a positive vaccination-related contribution to developing herd immunity against influenza in the pre-epidemic periods. After the 2019–2020 influenza epidemic, in spring 2020 (6–7 months after vaccination), the levels of antibodies to all vaccine components decreased by 2.6–3.5-fold in vaccinated donors compared to the pre-epidemic period in 2019 autumn. Antibody titers became substantially lower than the protective level (titer by HIT < 1/40). At the same time, no significant differences between the groups of vaccinated vs. unvaccinated individuals were observed afterwards. This indicates instability of post-vaccination anti-influenza humoral immunity. As a result, it may decrease an influenza-resistant population cohort of working age on the eve of new epidemic season. The immunogenicity of the inactivated trivalent seasonal influenza vaccine was estimated by HIT while analyzing paired sera obtained from 295 and 112 healthy individuals of various ages vaccinated in autumn 2019 and 2020, respectively. The response to the vaccine was found to be age-related. Children aged 3–14 years vs. older subjects showed a more efficient response. Insufficient immunogenicity of influenza B virus vaccine components was shown. In all age groups, average geometric titers for influenza B virus antibodies were lower (2–8-fold) than for current A(H1N1)pdm09-like strains and influenza A(H3N2) viruses 1–1.5 months post-vaccination. Analyzing vaccine immunogenicity showed a significant inverse relationship between the level of preexisting strain-specific serum antibodies before vaccination and formation of antibodies to the corresponding vaccine virus 1–1.5 months after vaccination. Seroconversion to each vaccine component was remarkably more frequent in individuals with a low preexisting level of antibodies specific to the corresponding virus.

Key words: vaccination, anti-influenza immunity, herd immunity, hemagglutination inhibition test, inactivated influenza vaccine, vaccine strains.

Введение

Грипп представляет собой одну из глобальных проблем здравоохранения. Высокая степень антигенной и генетической изменчивости вирусов гриппа определяет необходимость ежегодных изменений состава гриппозных вакцин. Вакцинация считается наиболее эффективным способом борьбы с гриппом и оказывает двойной эффект: прямой (уменьшение риска заболевания у привитых) и опосредованный (снижение возможности заражения непривитых лиц вследствие уменьшения восприимчивой части населения в результате формирования поствакцинального иммунитета у привитых). При этом непрямой эффект вакцинации может превышать прямой [15]. Достаточно широкий охват населения вакцинацией даже при использовании препаратов с умеренной эффективностью может существенно снизить трансмиссию вируса гриппа [6]. В этой связи для усиления

эффективности специфической противовирусной профилактики наряду с анализом молекулярно-биологических свойств циркулирующих вирусов и иммуногенности вакцинных препаратов важна также оценка состояния иммунной прослойки различных групп населения.

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА) традиционно является наиболее широко применяемым тестом при оценке иммуногенности гриппозных вакцин и уровня популяционного иммунитета. Установлена корреляция между уровнем в крови антител (АТ) с гемагглютинирующей активностью и степенью защиты от гриппа, что позволяет использовать этот тест при оценке протективного действия вакцин. Показано, что наличие в крови противогриппозных АТ с титром в РТГА 1/40 обеспечивает по крайней мере 50%-ное снижение риска заражения гриппом [21, 26], хотя вопрос о величине защитного порога в настоящее время дискутируется [9, 11]. Тем не менее титр АТ

1/40 принят как защитный в современных документах, регламентирующих оценку эффективности новых гриппозных вакцин методом РТГА, а лица с таким уровнем специфичных АТ в крови считаются серопозитивными [4, 16].

Цель работы состояла в оценке влияния вакцинации против гриппа на формирование иммунной прослойки среди здоровых лиц, а также в характеристике иммуногенности инактивированной гриппозной вакцины.

Материалы и методы

Клинические материалы. В соответствии с приказом Роспотребнадзора № 373 от 31.03.2005 «О совершенствовании системы эпидемиологического надзора и контроля за гриппом и острыми респираторными заболеваниями» влияние вакцинации на уровень гуморального популяционного противогриппозного иммунитета было оценено по результатам анализа 2955 сывороток от взрослых доноров, предоставленных городскими и областными центрами гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора в субъектах Российской Федерации осенью 2019 г., а также весной и осенью 2020 г. Сыворотки были получены от здоровых доноров (мужчин и женщин) в возрасте 18–60 лет, выборка была случайной и составляла не менее 100 человек из каждого города. Реакция на один из вариантов инактивированной трехвалентной вакцины была оценена при анализе парных сывороток, полученных от 295 здоровых лиц, привитых в сентябре–октябре 2019 г., а также от 112 лиц, вакцинированных осенью 2020 г. Сыворотки были взяты до вакцинации и через 1–1,5 месяца после прививки. Все доноры или их родители дали информированное согласие на участие в исследовании.

Вирусные штаммы. Актуальные вакцинные штаммы вируса гриппа были получены из международных центров по гриппу ВОЗ (центров по контролю и профилактике заболеваний США [Атланта, США] и сотрудничающего центра ВОЗ [Лондон, Англия]).

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА) была проведена в соответствии с методическими указаниями МУ 3.3.2.1758-03 2003 [5] с использованием гриппозных диагностикомов (ООО «ППДП», Санкт-Петербург). Сыворотки крови предварительно обрабатывали в течение 18 ч рецептор-разрушающим энзимом (Receptor-destroying enzyme, RDE) производства Denka Seiken (Япония) с последующим прогреванием при 56°C в течение 30 мин. При постановке реакции использовали 0,5% куриные эритроциты. Сероконверсиями считали 4-кратное и более увеличение титров АТ в сыворотках, полученных до и после вакцинации.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программ StatsDirect и Statistica 6.0. При множественных попарных сравнениях независимых выборок на одном массиве данных использовали критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Для сравнения выборочных долей применяли точный критерий Фишера. Мерой взаимосвязи между двумя переменными служил коэффициент ранговой корреляции Спирмена (R_s). Нулевые гипотезы отвергались при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Влияние вакцинации на уровень гуморального популяционного противогриппозного иммунитета было оценено методом РТГА по результатам анализа сывороток, полученных в предэпидемический период 2019–2020 гг. от привитых и непривитых взрослых доноров из разных городов РФ (657 образцов из 6 городов), а также после прошедшей эпидемии гриппа (1435 образцов из 14 городов). Для сравнения представлены данные анализа сывороток, полученных в предэпидемический период 2020–2021 гг. от 863 доноров из 8 городов. В каждом из периодов не наблюдалось возрастных различий между группами вакцинированных и невакцинированных. Средний возраст объединенных групп привитых и непривитых лиц составил $30,6 \pm 10,5$; $35,8 \pm 12,3$ и $37,8 \pm 11,2$ осенью 2019, весной 2020 и осенью 2020 гг. соответственно.

В предэпидемический период 2019–2020 гг. (через 1–2 месяца после кампании по вакцинации) доля серопозитивных лиц по отношению ко всем трем компонентам, входящим в состав вакцин данного сезона (А/Брисбен/02/2018(Н1N1)pdm09-подобный вирус; А/Канзас/14/2017(Н3N2); В/Колорадо/06/2017 линии В/Виктория/2/1987), была в 1,4–1,6 раза ($p < 0,01$) выше у вакцинированных (63–80%) по сравнению с непривитыми лицами (40–55%). Весной, по прошествии эпидемии и, соответственно, через 6–7 месяцев после вакцинации, процент серопозитивных лиц снизился в обеих группах в 1,2–1,8 раза. При этом более не наблюдалось значимых различий между вакцинированными и невакцинированными лицами ($p > 0,05$) (табл. 1), что свидетельствовало о падении у части населения уровня противогриппозных АТ, образовавшихся в результате предшествующей вакцинации.

Оценка средних геометрических титров (СГТ) АТ показала, что в предэпидемический период этот показатель по отношению к вирусам А(Н1N1)pdm09 и А(Н3N2), введенным в состав вакцин на сезон 2019–2020 гг., был в 3,4–

Таблица 1. Влияние вакцинации на формирование иммунной прослойки среди взрослых

Table 1. An effect of vaccination on developing immune population among adults

Период Period of monitoring	Число городов Number of cities	Число обслед. лиц Number of persons	Частота выявления серопозитивных лиц (%) по отношению к вирусам The frequency of seropositive persons (%) to viruses																						
			А/Брисбен/ 02/2018 (H1N1)pdm09- подобный A/Brisbane/ 02/2018 (H1N1)pdm09-like		А/Гуандун- Маonan/ SWL1536/2019 (H1N1)pdm09- подобный A/Guangdong- Maonan/ SWL1536/2019 (H1N1)pdm09-like		А/Канзас/ 14/2017(H3N2) A/Kansas/ 14/2017(H3N2)		А/Гонконг/ 2671/2019 (H3N2) A/Hong Kong/ 2671/2019 (H3N2)		В/Пхукет/ 3073/2013 (Ямагатская линия) V/Phuket/ 3073/2013 (Yamagata lineage)		В/Колорадо/ 06/2017 (Виктор. линия) V/Colorado/ 06/2017 (Victoria lineage)		В/Вашингтон/ 02/2019 (Виктор. линия) V/Washington/ 02/2019 (Victoria lineage)										
осень 2019 г. (предэпидем. 2019–2020 гг.) 2019 autumn (2019–2020 pre-epidemic)	6	+	80,8	55,6	1,5**	н/а n/a	н/а n/a	30,9	31,0	1,0	51,1	35,0	1,5	61,1	60,0	1,0	24,2	28,2	0,9	35,9	31,6	1,1	18,4	17,3	1,1
		–	165	492																					
весна 2020 г. (постэпидем. 2019–2020 гг.) 2020 spring (2019–2020 post-epidemic)	14	+	54,6	47,0	1,2	н/а n/a	н/а n/a	63,4	39,9	1,6**	н/а n/a	н/а n/a	40,3	1,6**	н/а n/a	н/а n/a	48,9	42,3	1,2	63,9	46,5	1,4**	33,1	16,9	2,0
		–	532	903																					
осень 2020 г. (предэпидем. 2020–2021 гг.) 2020 autumn (2020–2021 pre-epidemic)	8	+	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	63,4	39,9	1,6**	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	37,7	37,4	1,0	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	44,8	27,7	1,6**
		–	360	503																					

Примечания. «+» — вакцинированные доноры, «-» — невакцинированные доноры, «↔» — кратность различий доли серопозитивных лиц между группами вакцинированных и невакцинированных волонтеров, н/а — не анализировано в РТГА (замена штаммового состава в вакцине на сезон 2020–2021 гг.), ** — наличие значимых различий между группами вакцинированных и невакцинированных лиц (p < 0,01).

Notes. «+» — vaccinated donors, «-» — unvaccinated donors, * — multiplicity of differences in the proportion of seropositive individuals between the groups of vaccinated and unvaccinated volunteers, n/a — not analyzed by the HIT (replacement of the strain composition in the vaccine for the 2020–2021 season), ** — significant differences between the groups of vaccinated and unvaccinated persons (p < 0.01).

6,8 раза выше у вакцинированных по сравнению с непривитыми донорами ($p < 0,01$). Однако СГТ АТ к вирусу В/Колорадо/06/17 были сопоставимы ($p > 0,05$) у привитых и непривитых доноров, несмотря на значимые различия в доле серопозитивных лиц. В дополнение к этому титры АТ к данному штамму, в отличие от компонентов вирусов гриппа А, не достигали защитного уровня (1/40) даже в группе вакцинированных. Иная картина наблюдалась при анализе сывороток, собранных весной 2020 г., по прошествии эпидемии. Кратность отличий титров АТ к вирусам гриппа А и В, входящим в вакцину в 2019/2020 гг., у привитых и непривитых лиц составила лишь 1,4–1,6 ($p > 0,05$). При этом у привитых доноров СГТ АТ ко всем компонентам соответствующей сезонной вакцины снизились в 2,6–3,5 раза ($p < 0,01$) по сравнению с предэпидемическим периодом осени 2019 г., опустившись значительно ниже защитного уровня (табл. 2).

Вирусы, принадлежащие к Ямагатской линии, не входили в состав трехвалентных вакцин, использованных для массовой вакцинации населения в последние 4 сезона. Закономерно, что титры АТ к вирусу гриппа В/Пхукет/307/2013 в течение всего периода наблюдения были низкими и сопоставимыми у вакцинированных и непривитых доноров. При этом они лишь незначительно ($p > 0,05$) уступали значениям, выявленным для вакцинного вируса В/Колорадо/06/2017 Викторианской линии (табл. 2).

Что касается ответа на новые вирусы А/Гуандун-Маонан/SWL1536/2019 (H1N1)pdm09, А/Гонконг/2671/2019 (H3N2) и В/Вашингтон/02/2019, введенные в состав вакцин на сезон 2020–2021 гг., то весной 2020 г., до проведения очередной вакцинальной кампании, между группами вакцинированных и невакцинированных не наблюдалось различий в состоянии гуморального коллективного иммунитета. Частота серопозитивных лиц и СГТ АТ к вирусам А/Гуандун-Маонан/SWL1536/2019 и В/Вашингтон/02/2019 были низкими в обеих группах, значимо уступая ($p < 0,01$) данным, полученным для вирусов А/Брисбен/02/2018 и В/Колорадо/06/2017 соответственно. В то же время оба показателя, характеризующие уровень иммунитета к новому H3-компоненту А/Гонконг/2671/2019, были в этом случае выше, чем для предыдущего вакцинного вируса А/Канзас/14/2017, особенно у непривитых (в 1,7 раза, $p < 0,01$). Закономерно, что после вакцинации, проведенной в преддверии следующего эпидсезона осенью 2020 г., реакция на все новые штаммы в группе вакцинированных значимо превышала таковую в группе непривитых лиц. Однако показатели, полученные для нового вакцинного штамма В/Вашингтон/02/2019

Викторианской линии, были сопоставимы с наблюдаемыми для вируса В/Пхукет/3073/2013, не входящего в состав трехвалентных вакцин. СГТ АТ к вирусам гриппа В, в отличие от выявленных для вирусов гриппа А, не достигали защитного уровня даже у вакцинированных. В дополнение к этому СГТ АТ к вакцинным вирусам А и В были в 1,8–2,4 раза ниже ($p < 0,01$) у привитых осенью 2020, чем у вакцинированных осенью 2019 г. (табл. 1 и 2). Это косвенно указывает на более низкую иммуногенность сезонной инактивированной вакцины с обновленным штаммовым составом.

Помимо влияния, оказанного вакцинацией на состояние популяционного иммунитета взрослого населения РФ, была оценена иммуногенность одного из вариантов инактивированной трехвалентной вакцины на ограниченном контингенте. В РТГА были проанализированы парные сыворотки, полученные от 295 здоровых лиц, привитых в сентябре–октябре 2019 г. в Республике Саха. Кровь для анализа брали непосредственно до и через месяц после прививки. Вакцинированные были разделены на 3 возрастные группы: дети 3–14 лет ($n = 50$), подростки 15–17 лет ($n = 24$), а также взрослые люди старше 18 лет ($n = 221$). Средний возраст составил $8,6 \pm 3,3$, $15,5 \pm 0,8$ и $26,9 \pm 16,2$ лет соответственно. Характер ответа на препарат зависел от возраста. Наиболее активная реакция наблюдалась у детей до 14 лет. В данной группе высокими были показатели частоты сероконверсий, СГТ АТ в поствакцинальных пробах, а также кратность прироста АТ ко всем трем компонентам вакцины вирусам: А(H1N1)pdm09, А(H3N2) и гриппа В Викторианской линии. У подростков 15–17 лет и взрослых лиц эти характеристики были в целом ниже.

Во всех трех группах реакция на вирус гриппа В уступала таковой, выявленной для вирусов гриппа А обоих субтипов. Особенно низкие показатели были получены у взрослых доноров и подростков. В этих группах СГТ АТ к вирусу гриппа В после вакцинации были в 2,3–6,6 раза и 5,6–8,5 раза ниже ($p < 0,01$), чем для вирусов гриппа А(H1N1)pdm09 и А(H3N2) соответственно (табл. 3 и 4).

Для оценки иммуногенности той же инактивированной трехвалентной вакцины со штаммовым составом, обновленным на сезон 2020–2021 гг., были проанализированы парные сыворотки 112 лиц двух возрастных групп — подростков 9–14 лет ($n = 30$, средний возраст $11,6 \pm 1,5$ лет) и взрослых ($n = 82$, средний возраст $53,9 \pm 16,5$ лет), привитых в сентябре–октябре 2020 г. в Белгородской области. В данном случае частота сероконверсий и кратность прироста АТ ко всем трем компонентам вакцины были сопоставимы для обеих возрастных групп.

Таблица 2. Влияние вакцинации на СГТ противогриппозных антител у здоровых взрослых доноров
Table 2. An effect of vaccination on GMT of anti-influenza antibodies in healthy adult volunteers

Период Period of monitoring	Число городов Number of cities	Число обслед- лиц Number of persons	Частота выявления серопозитивных лиц (%) по отношению к вирусам The frequency of seropositive persons (%) to viruses															
			А/Брисбен/ 02/2018 (H1N1)pdm09- подобный A/Brisbane/ 02/2018(H1N1) pdm09-like		А/Гуандун- Маонан/ SWL1536/2019 (H1N1)pdm09- подобный A/Guangdong- Maonan/ SWL1536/2019 (H1N1)pdm09-like		А/Канзас/ 14/2017(H3N2) A/Kansas/ 14/2017(H3N2)		А/Гонконг/ 2671/2019 (H3N2) A/Hong Kong/ 2671/2019 (H3N2)		В/Пхукет/ 3073/2013 (Ямагатская линия) V/Phuket/ 3073/2013 (Yamagata lineage)		В/Колорадо/ 06/2017 (Виктор. линия) V/Colorado/ 06/2017 (Victoria lineage)		В/Вашингтон/ 02/2019 (Виктор. линия) V/Washington/ 02/2019 (Victoria lineage)			
осень 2019 г. (предэпидем. 2019–2020 гг.) 2019 autumn (2019–2020 pre-epidemic)	6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
весна 2020 г. (постэпидем. 2019–2020 гг.) 2020 spring (2019–2020 post-epidemic)	14	+	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a
		–	96,7	28,0	3,4**	80,7	12,3	6,6**	32,8	35,1	0,9	7,9	9,4	0,8	14,8	10,9	1,4	5,8
осень 2020 г. (предэпидем. 2020–2021 гг.) 2020 autumn (2020–2021 pre-epidemic)	8	+	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a	н/а n/a
		–	27,8	18,9	1,5	26,7	16,3	1,6	45,7	20,6	2,2**	21,0	18,0	1,2	17,7	11,3	1,6	17,7

Примечания. «+» — вакцинированные доноры, «-» — невакцинированные доноры, «↔» — кратность различий доли серопозитивных лиц между группами вакцинированных и невакцинированных волонтеров, н/а — не анализировано в РТГА (замена штаммового состава в вакцине на сезон 2020–2021 гг.), ** — наличие значимых различий между группами вакцинированных и невакцинированных лиц ($p < 0,01$).
Notes. «+» — vaccinated donors, «-» — unvaccinated donors, * — multiplicity of differences in the proportion of seropositive individuals between the groups of vaccinated and unvaccinated volunteers, n/a — not analyzed by the HIT (replacement of the strain composition in the vaccine for the 2020–2021 season), ** — significant differences between the groups of vaccinated and unvaccinated persons ($p < 0,01$).

Таблица 3. Иммуногенность трехвалентной инактивированной вакцины по отношению к вирусам гриппа А для детей и взрослых, привитых осенью 2019 г.

Table 3. Immunogenicity of the trivalent inactivated influenza A virus vaccine for children and adults vaccinated in autumn 2019

Параметры Characteristics	Дети 3–14 лет (8,6±3,3 лет) Children aged 3–14 years (8,6±3,3 years) n = 50		Дети 15–17 лет (15,5±0,8 лет) Children aged 15–17 years (15,5±0,8 years) n = 24		Взрослые (26,9±16,2 лет) Adults (26,9±16,2 years) n = 221	
	А/Брисбен/ 02/2018(H1N1) pdm09-подобный A/Brisbane/ 02/2018(H1N1) pdm09-like	А/Канзас/ 14/2017(H3N2) A/Kansas/ 14/2017(H3N2)	А/Брисбен/ 02/2018(H1N1) pdm09-подобный A/Brisbane/ 02/2018(H1N1) pdm09-like	А/Канзас/ 14/2017(H3N2) A/Kansas/ 14/2017(H3N2)	А/Брисбен/ 02/2018(H1N1) pdm09-подобный A/Brisbane/ 02/2018(H1N1) pdm09-like	А/Канзас/ 14/2017(H3N2) A/Kansas/ 14/2017(H3N2)
Частота сероконверсий (%) Seroconversion rates (%)	54,0	80,0	12,5	62,5	23,5	56,6
СГТ антител до/после вакцинации (обратные величины) GMT of antibodies before/after vaccination (reciprocal values)	94,5/452,5	35,8/342,9	130,7/179,8	46,2/232,9	53,7/71,6	42,3/146,5
Кратность прироста титров антител* Increase in antibody titers*	4,8	9,8	1,4	5,0	1,3	3,5
Доля серопозитивных лиц (с титрами АТ ≥ 1/40) до/после вакцинации (%) Frequency of seropositive persons (with antibody titers ≥ 1/40) before/after vaccination (%)	80,0/96,0	52,0/96,0	100/95,8	62,5/95,8	73,3/86,9	67,9/91,4
Частота снижения титров АТ после вакцинации (%)** Frequency of decrease in antibody titers after vaccination (%)**	0	6,0	25,0	8,3	28,5	12,2

Примечания. * — среднегрупповое соотношение титров АТ после и до вакцинации, ** — выявление случаев снижения титров АТ в поствакцинальных сыворотках по сравнению с уровнем АТ в пробах, полученных до вакцинации. Доля (%) от общего числа привитых.

Notes. * — average group ratio of antibody titers after and before vaccination, ** identification of reduction in antibody titers in post-vaccination sera compared to the level of antibodies in samples obtained before vaccination. Percentage (%) of total vaccinated.

Таблица 4. Иммуногенность трехвалентной инактивированной вакцины В для детей и взрослых, привитых осенью 2019 г.

Table 4. Immunogenicity of the trivalent inactivated influenza B virus vaccine for children and adults vaccinated in autumn 2019

Параметры Characteristics	Дети 3–14 лет Children aged 3–14 years n = 50		Дети 15–17 лет Children aged 15–17 years n = 24		Взрослые Adults n = 221	
	В/Колорадо/ 6/2017 (Виктор- линия) V/Colorado/ 06/2017 (Victoria lineage)	В/Пхукет/ 3073/2013 (Ямагат- линия) V/Phuket/ 3073/2013 (Yamagata lineage)	В/Колорадо/ 6/2017 (Виктор- линия) V/Colorado/ 06/2017 (Victoria lineage)	В/Пхукет/ 3073/2013 (Ямагат- линия) V/Phuket/ 3073/2013 (Yamagata lineage)	В/Колорадо/ 6/2017 (Виктор- линия) V/Colorado/ 06/2017 (Victoria lineage)	В/Пхукет/ 3073/2013 (Ямагат- линия) V/Phuket/ 3073/2013 (Yamagata lineage)
Частота сероконверсий (%) Seroconversion rates (%)	56,0	22,0	16,7	4,2	17,2	7,2
СГТ антител до/после вакцинации (обратные величины) GMT of antibodies before/after vaccination (reciprocal values)	10,7/40,6	18,4/27,9	20,6/27,5	30,8/25,9	19,8/26,0	21,5/20,0
Кратность прироста титров антител* Increase in antibody titers*	3,8	1,5	1,3	0,8	1,3	0,9
Доля серопозитивных лиц (с титрами АТ ≥ 1/40) до/после вакцинации (%) Frequency of seropositive persons (with antibody titers ≥ 1/40) before/ after vaccination (%)	16,0/68,0	34,0/50,0	33,3/45,8	54,2/45,8	35,7/49,8	43,9/39,8
Частота снижения титров АТ после вакцинации (%)** Frequency of decrease in antibody titers after vaccination (%)**	2,0	6,0	16,7	16,7	18,6	19,9

Примечания. * — среднегрупповое соотношение титров АТ после и до вакцинации, ** — выявление случаев снижения титров АТ в поствакцинальных сыворотках по сравнению с уровнем АТ в пробах, полученных до вакцинации. Доля (%) от общего числа привитых.

Notes. * — average group ratio of antibody titers after and before vaccination, ** — identification of reduction in antibody titers in post-vaccination sera compared to the level of antibodies in samples obtained before vaccination. Percentage (%) of total vaccinated.

Таблица 5. Иммуногенность трехвалентной инактивированной вакцины для детей и взрослых, привитых осенью 2020 г.
 Table 5. Immunogenicity of the trivalent inactivated vaccine for children and adults vaccinated in autumn 2020

Параметры Characteristics	Дети 9–14 лет (11,6±1,5 лет), n = 30 Children aged 9–14 years (11,6±1,5 years), n = 30				Взрослые (53,9±16,5 лет), n = 82 Adults (53,9±16,5 years), n = 82			
	А/Гуандун-Маонан/ SWL1536/ 2019(H1N1)pdm09- подобный A/Guangdong-Maonan/ SWL1536/2019 (H1N1)pdm09-like	А/Гонконг/ 2671/2019 (H3N2) A/Hong Kong/ 2671/2019 (H3N2)	В/Вашингтон/ 02/2019 (Виктор- линия) V/Washington/ 02/2019 (Victoria lineage)	В/Пхукет/ 3073/2013 (Ямагат- линия) V/Phuket/ 3073/2013 (Yamagata lineage)	А/Гуандун-Маонан/ SWL1536/ 2019(H1N1)pdm09- подобный A/Guangdong-Maonan/ SWL1536/2019 (H1N1)pdm09-like	А/Гонконг/ 2671/2019 (H3N2) A/Hong Kong/ 2671/2019 (H3N2)	В/Вашингтон/ 02/2019 (Виктор- линия) V/Washington/ 02/2019 (Victoria lineage)	В/Пхукет/ 3073/2013 (Ямагат- линия) V/Phuket/ 3073/2013 (Yamagata lineage)
Частота сероконверсий (%) Seroconversion rates (%)	60,0	40,0	50,0	40,0	64,6	40,2	54,9	22,0
СГТ антител до/после вакцинации (обратные величины) GMT of antibodies before/after vaccination (reciprocal values)	3,9/36,5	28,8/52,7	2,5/12,2	2,3/9,3	4,3/31,3	9,8/24,8	2,8/19,0	3,1/4,1
Кратность прироста титров антител* Increase in antibody titers*	9,4	1,8	4,9	4,0	7,3	2,5	6,8	1,3
Доля серопозитивных лиц (с титрами АТ ≥ 1/40) до/после вакцинации (%) Frequency of seropositive persons (with antibody titers ≥ 1/40) before/after vaccination (%)	23,3/66,7	70,0/80,0	10,0/46,7	10,0/30,0	19,5/64,6	35,4/53,7	8,5/46,3	9,8/17,1
Частота снижения титров АТ после вакцинации (%)** Frequency of decrease in antibody titers after vaccination (%)**	10,0	40,0	3,3	16,7	13,4	23,2	9,8	17,1

Примечания. * — среднегрупповое соотношение титров АТ после и до вакцинации, ** — выявление случаев снижения титров АТ в поствакцинальных сыворотках по сравнению с уровнем АТ в пробах, полученных до вакцинации. Доля (%) от общего числа привитых.

Notes. * — average group ratio of antibody titers after and before vaccination, ** — identification of reduction in antibody titers in post-vaccination sera compared to the level of antibodies in samples obtained before vaccination. Percentage (%) of total vaccinated.

Это же относится и к СГТ АТ, за исключением НЗ-компонента. К вирусу А/Гонконг/2671/2019 уровень АТ в поствакцинальных сыворотках был в 2 раза выше ($p < 0,05$) у детей, чем у взрослых. Следует отметить, что через 1–1,5 месяца после прививки показатели СГТ АТ к вакцинному штамму Викторианского вируса гриппа В уступали таковым, определенным для вирусов гриппа А, особенно у детей (в 3–4 раза, $p < 0,01$) (табл. 5).

Интересно, что у части привитых как в 2019, так и в 2020 гг. наблюдались сероконверсии к вирусу гриппа В Ямагатской линии (от 4 до 40% случаев), который не входил в состав анализируемой вакцины (табл. 4, 5). При этом в 78–100% таких случаев повышение уровня АТ, специфичных к вирусу В/Пхукет/3073/13, наблюдали синхронно с сероконверсиями к существующим вакцинным вирусам гриппа В Викторианской линии.

Обращает на себя внимание значительное число лиц (особенно среди привитых в 2019 г.), имеющих в крови еще до иммунизации услов-

но-протективный уровень противогриппозных АТ. В ряде случаев (в 2–40% от общего числа привитых) высокое содержание в крови штамм-специфичных преобладающих АТ (титры $\geq 1/40$) было ассоциировано не с сероконверсиями, но, наоборот, с падением титров АТ к соответствующим вирусам в сыворотках, полученных после вакцинации, — в 4–16 раз относительно исходного уровня (табл. 3, 4, 5).

Анализ суммарной выборки вакцинированных лиц показал значимую обратную зависимость между титрами штамм-специфичных преобладающих АТ в крови и частотой выявленных сероконверсий. Коэффициент корреляции Спирмена (R_s) между этими параметрами варьировал в пределах $-0,94/-0,99$ ($p < 0,01$) (рис. 1, 2). Положительный ответ на вакцинные компоненты значительно чаще наблюдали у лиц с низким предвакцинальным уровнем грипп-специфичных АТ. Интересно, что этой закономерности подчинялись также АТ к вирусу гриппа В Ямагатской линии, не входившему в состав вакцин.

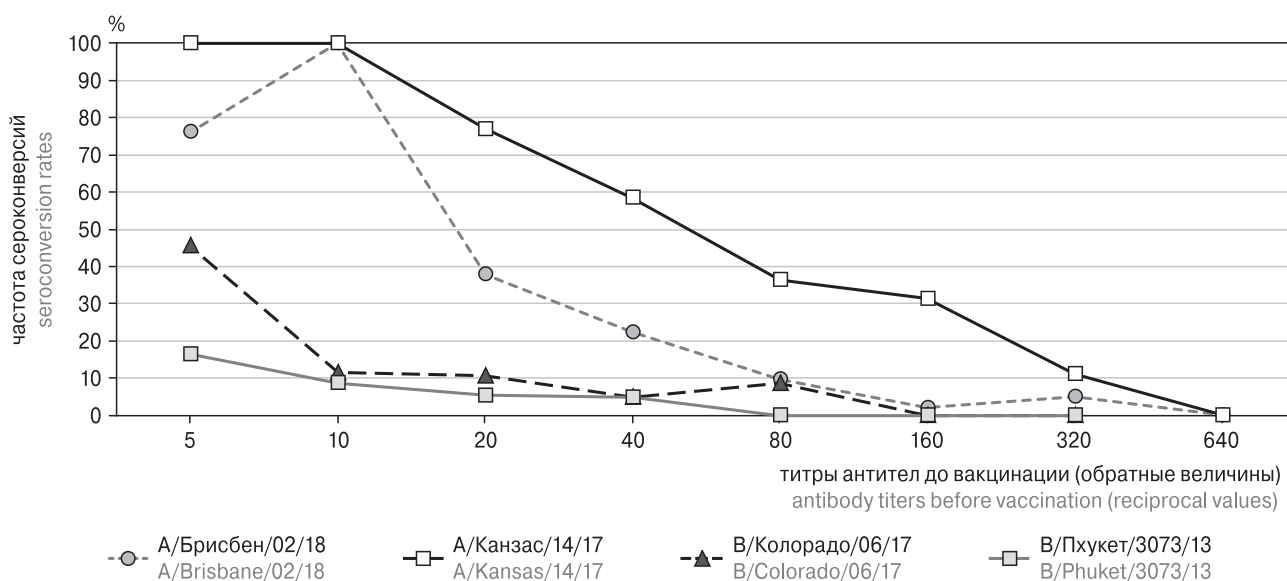


Рисунок 1. Зависимость ответа на введение трехвалентной инактивированной вакцины от уровня преобладающих вирус-специфических антител в крови взрослых и подростков ($n = 245$), привитых осенью 2019 г.

Figure 1. A relation between response to exposure of trivalent inactivated vaccine and pre-existing level of serum virus-specific antibodies in adults and adolescents ($n = 245$) vaccinated in autumn 2019

Примечания. Ось ординат — частота сероконверсий, выявленная в парных сыворотках у доноров с указанным титром антител до вакцинации, ось абсцисс — титры антител до вакцинации (обратные величины). R_s — коэффициент корреляции Спирмена — отрицательная корреляция между титрами вирус-специфических антител в сыворотках до вакцинации и частотой сероконверсий к соответствующему вирусу, выявленной в ответ на вакцинацию: А(H1N1)pdm09 $R_s = -0,95$, $p = 0,001$; А(H3N2) $R_s = -0,99$, $p = 0,0002$; В Виктор. $R_s = -0,95$, $p = 0,007$; В Ямагат. $R_s = -0,96$, $p = 0,005$.

Notes. Y-axis denotes rate of seroconversion detected in paired sera from volunteers with the indicated antibody titer before vaccination, X-axis — antibody titers before vaccination (reciprocal values). R_s — Spearman's correlation coefficient — negative correlation between the serum titers of virus-specific antibodies before vaccination and rate of seroconversion to the corresponding virus detected in response to vaccination: A(H1N1)pdm09 $R_s = -0,95$, $p = 0,001$; A(H3N2) $R_s = -0,99$, $p = 0,0002$; B Victoria-like $R_s = -0,95$, $p = 0,007$; B Yamagata-like $R_s = -0,96$, $p = 0,005$.

Таким образом, иммуногенная активность вакцин зависела от возраста, а также от уровня в крови вирус-специфических предсуществующих АТ.

Обсуждение

В настоящее время активно обсуждаются вопросы стратегии и тактики профилактики гриппа, включая вакцинацию. При сочетании вакцинных компонентов с циркулирующими вирусами эффективность сезонных гриппозных вакцин может превышать 60% [1, 14]. В то же время антигенное несоответствие между циркулирующими и вакцинными вирусами является одной из основных причин низкой эффективности вакцин. Серьезную проблему в этом плане представляют вирусы гриппа В, относящиеся к Викторианской или Ямагатской линиям, а также чрезвычайно гетерогенная группа вирусов гриппа А(Н3N2) [7, 8]. Успех программы вакцинации, помимо антигенного состава препарата, зависит от восприимчивости человеческой популяции к реально циркулирующим вирусам. В этой связи предметом

активного изучения является уровень вирус-специфического популяционного иммунитета, необходимый для ограничения распространения инфекции [6, 15].

Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о положительном вкладе вакцинации в формирование коллективного иммунитета против гриппа. Доказательством этого служат значительно более высокие показатели гуморального противовирусного иммунитета у привитых лиц по сравнению с невакцинированными, выявленные в различных городах РФ осенью 2019 и 2020 гг. С другой стороны, показана нестабильность поствакцинального противогриппозного гуморального иммунитета. Подтверждением этого служит значительное снижение показателей СГТ грипп-специфических АТ и доли серопозитивных лиц, выявленное через 6–7 месяцев после вакцинации (весной 2020 г.), по сравнению с предэпидемическим периодом (осенью 2019 г.). Результатом может быть уменьшение невосприимчивой к гриппу прослойки работоспособного населения.

Интересно, что в постэпидемический период (весной 2020 г.) как у привитых, так и, в еще

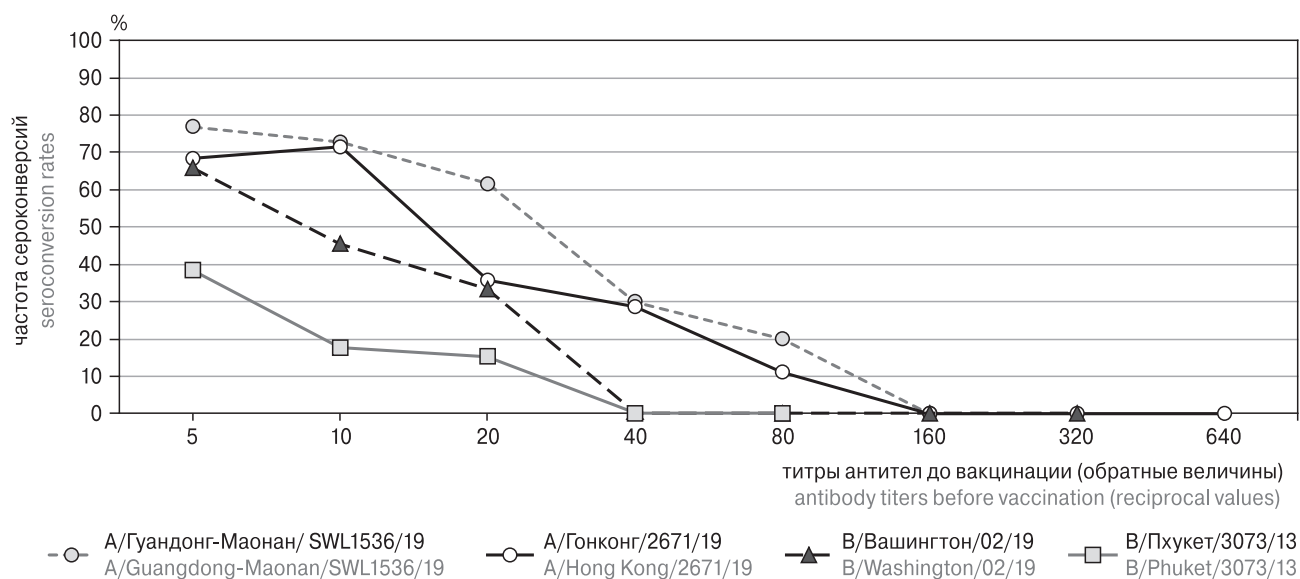


Рисунок 2. Зависимость ответа на введение инактивированной вакцины от уровня предсуществующих вирус-специфических антител в крови детей и взрослых (n = 112), привитых осенью 2020 г.

Figure 2. A relation between response to exposure to trivalent inactivated vaccine on the pre-existing level of serum virus-specific antibodies in children and adults (n = 112) vaccinated in autumn 2020

Примечания. Ось ординат — частота сероконверсий, выявленная в парных сыворотках у доноров с указанным титром антител до вакцинации, ось абсцисс — титры антител до вакцинации (обратные величины). R_s — коэффициент корреляции Спирмена: A(H1N1)pdm09 $R_s = -0,95$, $p = 0,01$; A(H3N2) $R_s = -0,94$, $p = 0,0002$; В Виктор. $R_s = -0,94$, $p = 0,005$; В Ямагат. $R_s = -0,97$, $p = 0,005$.

Notes. Y-axis denotes rate of seroconversion detected in paired sera from volunteers with the indicated antibody titer before vaccination, X-axis — antibody titers before vaccination (reciprocal values). R_s — Spearman's correlation coefficient: A(H1N1)pdm09 $R_s = -0,95$, $p = 0,01$; A(H3N2) $R_s = -0,94$, $p = 0,0002$; B Victoria-like $R_s = -0,94$, $p = 0,005$; B Yamagata-like $R_s = -0,97$, $p = 0,005$.

большой степени, у невакцинированных лиц показатели состояния иммунитета были выше к новому НЗ-компоненту А/Гонконг/2671/2019, который ввели в состав вакцин только в следующем эпидсезоне, чем к вирусу А/Канзас/14/2017, входящему в вакцины на сезон 2019–2020 гг. Эти результаты отражают несоответствие между составом вакцин и реально циркулирующими вирусами, поскольку согласно данным Национального центра по гриппу при НИИ гриппа в эпидемическом сезоне 2019–2020 гг. в России циркулировали вирусы, генетически близкие вирусу А/Гонконг/2671/2019 (генетическая подгруппа 3С.2alb+Т135К-В), но не вирусу А/Канзас/14/2017 (клайд 3С.3а) [2]. Таким образом, высокий уровень иммунитета к вирусу А(Н3N2) у населения, выявленный весной 2020 г., является результатом не вакцинации, а инфекции, перенесенной на фоне антигенно несоответствующей НЗ-составляющей вакцин. Оценка уровня популяционного иммунитета показала также недостаточную иммуногенность вакцинного компонента вирусов гриппа В.

Помимо влияния вакцинации на состояние противогриппозного популяционного иммунитета среди взрослого населения РФ в 2019–2020 гг., была оценена иммуногенность инактивированной трехвалентной сезонной гриппозной вакцины у ограниченного контингента здоровых лиц.

Известно, что на индивидуальную чувствительность к вакцине и эффективность вакцинации может оказывать влияние множество демографических факторов, таких как возраст, состояние здоровья, пол, персональная история предшествующих заболеваний и вакцинаций [1, 13, 23].

Согласно полученным нами данным, в оба эпидсезона (2019–2020 гг. и 2020–2021 гг.) характер реакции на вакцину зависел от возраста. У детей в возрасте до 14 лет наблюдался более выраженный ответ по сравнению с лицами старшего возраста. При этом, так же как и при анализе состояния популяционного иммунитета, была показана недостаточная иммуногенность антигенов (АГ) вакцинных вирусов гриппа В. Эти результаты согласуются с данными других исследователей о сниженной иммуногенности компонентов вирусов гриппа В по сравнению с компонентами вируса гриппа А в составе некоторых коммерческих инактивированных вакцин [24]. Кроме того, эффективность инактивированных вакцин в предотвращении гриппа В оставалась достаточно низкой как у детей, так и у взрослых, вне зависимости от соответствия штаммового состава вакцин реально циркулировавшим вирусам [29, 32].

Интересным оказался факт выявления у привитых сероконверсий к вирусу грип-

па В Ямагатской линии (от 4 до 40%), который не входил в состав анализируемой вакцины. При этом абсолютное большинство случаев (78–100%) повышения АТ к вирусу В/Пхукет/3073/2013 наблюдали синхронно с сероконверсиями к вакцинным Викторианским вирусам гриппа В. Реальность таких реакций подтверждают данные литературы. Так, у привитых волонтеров наряду с АТ к новому вакцинному вирусу гриппа В наблюдали образование АТ также к вирусам гриппа В гетерологичной линии, не входящим в состав вакцин [19, 25]. Такие неспецифические конверсии могут быть результатом реактивации долгоживущих В-клеток памяти в ответ на воздействие белковых последовательностей, сходных по структуре с теми, с которыми иммунная система имела контакт ранее [31]. Еще одним объяснением может быть неспецифическая антиген-независимая поликлональная активация В-клеток памяти (bystander activation), образовавшихся в течение жизни в результате предшествующих инфекций [22]. В нашем случае для стимуляции уже сформированной иммунологической памяти имеются все основания, поскольку вирусы, подобные штамму В/Пхукет/3073/2013, циркулировали на территории РФ в сезоны 2014–2015, 2017–2018, 2018–2019 и 2019–2020 гг. [3].

Помимо этого показана возможность образования *de novo* истинно кросс-реактивных гемагглютинирующих АТ, взаимодействующих с вирусами гриппа В как Ямагатской, так и Викторианской линий [19, 25, 28, 33], поскольку идентичность аминокислотных последовательностей молекулы НА1 вирусов гриппа В Ямагатской и Викторианской линий составляет 89,6–92,8%, что в 3 раза превосходит таковую у вирусов гриппа Н1 и Н3 [31].

В результате оценки иммуногенности инактивированной гриппозной вакцины была показана обратная связь между уровнем предсуществующих штамм-специфичных АТ, выявленных в крови на момент прививки, и образованием АТ к соответствующему вакцинному компоненту после введения препарата. При этом влияние предсуществующих иммуноглобулинов памяти носило антиген-специфичный характер. Сероконверсии к каждому вакцинному компоненту значительно чаще наблюдали у лиц с низким исходным уровнем в крови АТ именно к данному вирусу. Эти результаты согласуются с данными других исследователей, наблюдавших такую же закономерность у людей, привитых инактивированными гриппозными вакцинами [10, 12, 27].

По нашим наблюдениям, у части привитых (до 40%) высокое содержание в крови штамм-специфичных предсуществующих АТ (титры $\geq 1/40$ по данным РТГА) было ассоциировано

не с увеличением, а с падением после вакцинации уровня АТ к соответствующим вирусам. При этом снижение было АГ-специфичным и независимым от уровня АТ к другим АГ.

Известно, что АТ класса G обладают выраженными иммуномодулирующими свойствами и способны, в зависимости от обстоятельств, усиливать или ингибировать образование АТ по принципу обратной связи. Описаны некоторые механизмы дозозависимой АГ-специфичной супрессии (вплоть до 100% ингибирования) адаптивного В-клеточного иммунитета предшествующими АТ, которые являются результатом функционирования В-клеток памяти, способных в течение длительного времени после предшествующих инфекций или вакцинаций поддерживать достаточно высокий уровень «иммуноглобулинов памяти». При этом Т-клеточный иммунитет остается незатронутым. Эти механизмы препятствуют гиперактивации В-клеток в ситуации, когда на момент введения антигена содержание в крови специфических к нему IgG уже достаточно велико и способно обеспечить защиту организма. Так, на мембранах некоторых иммунокомпетентных клеток экспрессируются ингибирующие рецепторы FcγRIIb (CD32B), которые взаимодействуют с Fc-фрагментами молекул IgG, входящих в состав иммунных комплексов (ИК), но не реагируют со свободными мономерными IgG. Одновременное связывание В-клеточных рецепторов (BCR) и FcγRIIb ИК, образованными повторно введенными родственными АГ и предшествующими специфичными к ним АТ, приводит к ингибированию функций В-клеток: активации, пролиферации, дифференцировки в АТ-продуцирующие плазматические клетки и синтезу АТ. Поскольку FcγRIIb экспрессируются на мембранах АГ-презентирующих дендритных клеток, В-клеток памяти, зрелых В-лимфоцитов, а также долгоживущих плазматических клеток, локализованных в селезенке и костном мозге, опосредованные ими реакции позволяют не только ингибировать формирование первичного адаптивного В-клеточного ответа, но и снижать уровень уже существующего [17, 18, 20, 34], что наблюдалось в нашем случае.

Степень влияния предшествующего противовирусного иммунитета на поствакцинальный ответ трудно поддается анализу из-за его индивидуального характера. Тем не менее в целом ряде работ приводятся доказательства снижения эффективности повторных ежегодных вакцинаций [7, 30].

Заключение

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что показатели иммуногенности инактивированной гриппозной вакцины варьируют в зависимости от конкретной выборки привитых лиц. Одним из факторов влияния является состояние предшествующего вирусспецифического иммунитета вакцинированных лиц, которое отражает историю предшествующих заболеваний и прививок и имеет тенденцию изменяться с возрастом. У иммунных лиц с высоким содержанием в крови противогриппозных АТ может наблюдаться отсутствие реакции на последующее введение структурно сходных АГ или снижение (возможно, временное) содержания уже существующих АТ заданной специфичности. Можно предположить, что такая частичная супрессия адаптивного В-клеточного иммунитета в целом не влияет негативно на уровень протекции от гриппа, которая может осуществляться за счет циркулирующих кросс-реактивных предшествующих IgG памяти, Т-клеточных реакций и активации других механизмов адаптивного иммунитета

Благодарности

Авторы статьи выражают глубокую признательность руководству и сотрудникам городских и областных центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, сотрудничающих с ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России по вопросам изучения противогриппозного популяционного иммунитета и эффективности вакцинации. Особую благодарность авторы выражают сотрудникам ЦГиЭ в Республике Саха (Якутия) и Белгородской области за предоставление для анализа сывороток вакцинированных лиц.

Список литературы/References

1. Даниленко Д.М., Соминина А.А., Комиссаров А.Б., Писарева М.М., Гужов Д.А., Дондурей Е.А., Образцова Е.В., Рожкова Е.Г., Суховецкая В.Ф., Тимонина В.С., Столяров К.А., Петров Д.В., Смородинцева Е.А., Бакаев М.И., Леванюк Т.П., Афанасьева О.И., Лиознов Д.А., Яковлев А.А., Васин А.В. Эффективность вакцинации от гриппа в снижении частоты госпитализаций, оцененная на разных стадиях эпидемического цикла // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2019. Т. 18, № 5. С. 63–69. [Danilenko D.M., Somnina A.A., Komissarov A.B., Pisareva M.M., Guzhov D.A., Dondurey E.A., Obraztsova E.V., Rozhkova E.G., Sukhovetskaya V.F., Timonina V.S., Stolyarov K.A., Petrov D.V., Smorodintseva E.A., Bakaev M.I., Levanyuk T.P., Afanasyeva O.I., Lioznov D.A., Vasin A.V., Yakovlev A.A. Influenza vaccine effectiveness assessed at different stages of the epidemic cycle in reducing the frequency of hospitalization with influenza. *Epidemiologiya i vaktinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2019, vol. 18, no. 5, pp. 63–69. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-5-63-69

2. Ежедневный национальный бюллетень по гриппу и ОРВИ за 22 неделю 2020 года (25.05.20–31.05.20). Ситуация в России. Резюме. [National weekly influenza bulletin of the Russian Federation week 22 of 2020 (25.05.20–31.05.20). The situation in Russia. Summary. (In Russ.)] URL: https://www.influenza.spb.ru/system/epidemic_situation/laboratory_diagnostics/?year=2020&week=22
3. Ежедневный национальный бюллетень по гриппу и ОРВИ за 2 неделю 2022 года (10.01.22–16.01.22). Ситуация в России. Резюме. [National weekly influenza bulletin of the Russian Federation week 2 of 2022 (10.01.22–16.01.22). The situation in Russia. Summary. (In Russ.)] URL: https://www.influenza.spb.ru/system/epidemic_situation/laboratory_diagnostics
4. Изучение популяционного иммунитета к гриппу у населения Российской Федерации: методические указания МУ 3.1.3490-17. Утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 27 октября 2017 г. [Study of population immunity against influenza in the population of the Russian Federation: methodical guideline МУ 3.1.3490-17. Approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on October 27, 2017. (In Russ.)] URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71723602>
5. Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа: методические указания МУ 3.3.2.1758-03. Утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 28 сентября 2003 г. [Methods for determining the quality indicators of immunobiological preparations for the prevention and diagnosis of influenza: methodological guidelines МУ 3.3.2.1758-03. Approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on September 28, 2003. (In Russ.)] URL: http://rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4727
6. Arinaminpathy N., Kim I.K., Gargiullo P., Haber M., Foppa I.M., Gambhir M., Breesee J. Estimating direct and indirect protective effect of influenza vaccination in the United States. *Am. J. Epidemiol.*, 2017, vol. 186, no. 1, pp. 92–100. doi: 10.1093/aje/kwx037
7. Belongia E.A., McLean H.Q. Influenza vaccine effectiveness: defining the H3N2 problem. *Clin. Infect. Dis.*, 2019, vol. 69, no. 10, pp. 1817–1823. doi: 10.1093/cid/ciz411
8. Belongia E.A., Skowronski D.M., McLean H.Q., Chambers C., Sundaram M.E., De Serres G. Repeated annual influenza vaccination and vaccine effectiveness: review of evidence. *Expert. Rev. Vaccines*, 2017, vol. 16, no. 7, pp. 723–736. doi: 10.1080/14760584.2017.1334554
9. Benoit A., Beran J., Devaster J.M., Esen M., Launay O., Leroux-Roels G., McElhaney J.E., Oostvogels L., van Essen G.A., Gaglani M., Jackson L.A., Vesikari T., Legrand C., Tibaldi F., Innis B.L., Dewé W. Hemagglutination inhibition antibody titers as a correlate of protection against seasonal A/H3N2 influenza disease. *Open Forum Infect. Dis.*, 2015, vol. 2, no. 2: ofv067. doi: 10.1093/ofid/ofv067
10. Beyer W.E., Palache A.M., Lüchters G., Nauta J., Osterhaus A.D. Seroprotection rate, mean fold increase, seroconversion rate: which parameter adequately expresses seroresponse to influenza vaccination? *Virus Res.*, 2004, vol. 103, no. 1–2, pp. 125–132. doi: 10.1016/j.virusres.2004.02.024
11. Black S., Nicolay U., Vesikari T., Knuf M., Del Giudice G., Della Cioppa G., Tsai T., Clemens R., Rappuoli R. Hemagglutination inhibition antibody titers as a correlate of protection for inactivated influenza vaccines in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2011, vol. 30, no. 12, pp. 1081–1085. doi: 10.1097/INF.0b013e3182367662
12. Castrucci M.R. Factors affecting immune responses to the influenza vaccine. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2018, vol. 14, no. 3, pp. 637–646. doi: 10.1080/21645515.2017.1338547
13. Doyle J.D., Beacham L., Martin E.T., Talbot H.K., Monto A., Gaglani M., Middleton D.B., Silveira F.P., Zimmerman R.K., Alyanak E., Smith E.R., Flannery B.L., Rolfes M., Ferdinand J.M. Relative and absolute effectiveness of high-dose and standard-dose influenza vaccine against influenza-related hospitalization among older adults — United States, 2015–2017. *Clin. Infect. Dis.*, 2021, vol. 72, no. 6, pp. 995–1003. doi: 10.1093/cid/ciaa160
14. Doyle J.D., Chung J.R., Kim S.S., Gaglani M., Raiyani C., Zimmerman R.K., Nowalk M.P., Jackson M.L., Jackson L.A., Monto A.S., Martin E.T., Belongia E.A., McLean H.Q., Foust A., Sessions W., Berman L., Garten R.J., Barnes J.R., Wentworth D.E., Fry A.M., Patel M.M., Flannery B. Interim estimates of 2018–19 seasonal influenza vaccine effectiveness — United States, February 2019. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.*, 2019, vol. 68, no. 6, pp. 135–139. doi: 10.15585/mmwr.mm6806a2
15. Eichner M., Schwehm M., Eichner L., Gerlier L. Direct and indirect effects of influenza vaccination. *BMC Infect. Dis.*, 2017, vol. 17, no. 1: 308. doi: 10.1186/s12879-017-2399-4
16. EMA. Guideline on influenza vaccines. Non-clinical and clinical module. *EMA*, 2016. 31 p.
17. Espéli M., Smith K.G., Clatworthy M.R. FcγRIIB and autoimmunity. *Immunol. Rev.*, 2016, vol. 269, no. 1, pp. 194–211. doi: 10.1111/immr.12368
18. Heyman B. Antibodies as natural adjuvants. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2014, vol. 382, pp. 201–219. doi: 10.1007/978-3-319-07911-0_9
19. Hirano D., Ohshima N., Kubota-Koketsu R., Yamasaki A., Kurosawa G., Okuno Y., Yoshida S., Kurosawa Y. Three types of broadly reacting antibodies against influenza B viruses induced by vaccination with seasonal influenza viruses. *J. Immunol. Res.*, 2018: 7251793. doi: 10.1155/2018/7251793
20. Hjelm F., Carlsson F., Getahun A., Heyman B. Antibody-mediated regulation of the immune response. *Scand. J. Immunol.*, 2006, vol. 64, no. 3, pp. 177–184. doi: 10.1111/j.1365-3083.2006.01818.x
21. Hobson D., Curry R.L., Beare A.S., Ward-Gardner A. The role of serum haemagglutination inhibiting antibody in protection against challenge infection with influenza A2 and B viruses. *J. Hyg.*, 1972, vol. 70, pp. 767–777. doi: 10.1017/s0022172400022610
22. Horns F., Dekker C.L., Quake S.R. Memory B cell activation, broad anti-influenza antibodies, and bystander activation revealed by single-cell transcriptomics. *Cell. Rep.*, 2020, vol. 30, no. 3, pp. 905–913.e6. doi: 10.1016/j.celrep.2019.12.063
23. Jang H., Ross T.M. Preexisting influenza specific immunity and vaccine effectiveness. *Expert. Rev. Vaccines*, 2019, vol. 18, no. 10, pp. 1043–1051. doi: 10.1080/14760584.2019.1675519
24. Khurana S., Hahn M., Coyle E.M., King L.R., Lin T.L., Treanor J., Sant A., Golding H. Repeat vaccination reduces antibody affinity maturation across different influenza vaccine platforms in humans. *Nat. Commun.*, 2019, vol. 10, no. 1: 3338. doi: 10.1038/s41467-019-11296-5

25. Liu Y., Tan H.X., Koutsakos M., Jegaskanda S., Esterbauer R., Tilmanis D., Aban M., Kedzierska K., Hurt A.C., Kent S.J., Wheatley A.K. Cross-lineage protection by human antibodies binding the influenza B hemagglutinin. *Nat. Commun.*, 2019, vol. 10, no. 1: 324. doi: 10.1038/s41467-018-08165-y
26. Potter C.W., Oxford J.S. Determinants of immunity to influenza infection in man. *Br. Med. Bull.*, 1979, vol. 35, no. 1, pp. 69–75. doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a071545
27. Sasaki S., He X.S., Holmes T.H., Dekker C.L., Kemble G.W., Arvin A.M., Greenberg H.B. Influence of prior influenza vaccination on antibody and B-cell responses. *PLoS One*, 2008, vol. 3, no. 8: e2975. doi: 10.1371/journal.pone.0002975
28. Shen C., Chen J., Li R., Zhang M., Wang G., Stegalkina S., Zhang L., Chen J., Cao J., Bi X., Anderson S.F., Alefantis T., Zhang M., Cai X., Yang K., Zheng Q., Fang M., Yu H., Luo W., Zheng Z., Yuan Q., Zhang J., Wai-Kuo Shih J., Kleantous H., Chen H., Chen Y., Xia N. A multimechanistic antibody targeting the receptor binding site potently cross-protects against influenza B viruses. *Sci. Transl. Med.*, 2017, vol. 9, no. 412: eaam5752. doi: 10.1126/scitranslmed.aam5752
29. Shinjoh M., Sugaya N., Furuichi M., Araki E., Maeda N., Isshiki K., Ohnishi T., Nakamura S., Yamada G., Narabayashi A., Nishida M., Taguchi N., Nakata Y., Yoshida M., Tsunematsu K., Shibata M., Munenaga T., Hirano Y., Ookawara I., Sekiguchi S., Kobayashi Y., Yamaguchi Y., Yoshida N., Mitamura K., Takahashi T.; Keio Pediatric Influenza Research Group. Effectiveness of inactivated influenza vaccine in children by vaccine dose, 2013–18. *Vaccine*, 2019, vol. 37, no. 30, pp. 4047–4054. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.05.090
30. Skowronski D.M., Chambers C., Sabaiduc S., De Serres G., Winter A.L., Dickinson J.A., Krajden M., Gubbay J.B., Drews S.J., Martineau C., Eshaghi A., Kwindt T.L., Bastien N., Li Y. A perfect storm: impact of genomic variation and serial vaccination on low influenza vaccine effectiveness during the 2014-2015 season. *Clin. Infect. Dis.*, 2016, vol. 63, no. 1, pp. 21–32. doi: 10.1093/cid/ciw176
31. Skowronski D.M., Hamelin M.E., Janjua N.Z., De Serres G., Gardy J.L., Rhéaume C., Bouhy X., Boivin G. Cross-lineage influenza B and heterologous influenza A antibody responses in vaccinated mice: immunologic interactions and B/Yamagata dominance. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 6: e38929. doi: 10.1371/journal.pone.0038929
32. Tricco A.C., Chit A., Soobiah C., Hallett D., Meier G., Chen M.H., Tashkandi M., Bauch C.T., Loeb M. Comparing influenza vaccine efficacy against mismatched and matched strains: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med.*, 2013, vol. 11: 153. doi: 10.1186/1741-7015-11-153
33. Vigil A., Estéles A., Kauvar L.M., Johnson S.K., Tripp R.A., Wittekind M. Native human monoclonal antibodies with potent cross-lineage neutralization of influenza B viruses. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 2018, vol. 62, no. 5: e02269-17. doi: 10.1128/AAC.02269-17
34. Xu H., Heyman B. IgG-mediated suppression of antibody responses: hiding or snatching epitopes? *Scand. J. Immunol.*, 2020, vol. 92, no. 4: e12921. doi: 10.1111/sji.12921

Авторы:

Кривицкая В.З., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории изучения факторов риска при гриппе и ОРВИ, ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

Кузнецова Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения факторов риска при гриппе и ОРВИ, ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

Майорова В.Г., старший научный сотрудник лаборатории изучения факторов риска при гриппе и ОРВИ, ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

Петрова Е.Р., младший научный сотрудник лаборатории изучения факторов риска при гриппе и ОРВИ, ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

Соминина А.А., д.м.н., профессор, зав. лабораторией изучения факторов риска при гриппе и ОРВИ, ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

Даниленко Д.М., к.б.н., заместитель директора по научной работе ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Krivitskaya V.Z., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Laboratory for the Study of Risk Factors for Influenza and ARVI, Smorodintsev Research Institute of Influenza of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

Kuznetsova E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory for the Study of Risk Factors for Influenza and ARVI, Smorodintsev Research Institute of Influenza of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

Maierova V.G., Senior Researcher, Laboratory for the Study of Risk Factors for Influenza and ARVI, Smorodintsev Research Institute of Influenza of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

Petrova E.R., Junior Researcher, Laboratory for the Study of Risk Factors for Influenza and ARVI, Smorodintsev Research Institute of Influenza of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

Sominina A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory for the Study of Risk Factors for Influenza and ARVI, Smorodintsev Research Institute of Influenza of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

Danilenko D.M., PhD (Biology), Deputy Director for Scientific Work, Smorodintsev Research Institute of Influenza of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation.

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ВИФЕРОН® В ФОРМЕ СУППОЗИТОРИЕВ РЕКТАЛЬНЫХ *IN VITRO* В ОТНОШЕНИИ SARS-CoV-2

И.Н. Исакова-Сивак¹, Е.А. Степанова¹, Л.Г. Руденко¹, М.С. Бартов²,
Е.Н. Выжлова², В.В. Малиновская²

¹ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. В 2020–2021 гг. мир охватила пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), вызываемой вирусом SARS-CoV-2. Низкий охват населения вакцинацией против COVID-19 и отсутствие коллективного иммунитета приводят к необходимости поиска эффективного и безопасного этиотропного средства лечения. Лекарственные препараты для лечения COVID-19, одобренные на момент написания статьи, имеют ряд ограничений, связанных с условиями их применения и/или категорией популяции. В этой ситуации перспективным средством могут стать интерферон-содержащие препараты, широко применяемые в России и странах СНГ для профилактики и лечения вирусных инфекционных заболеваний, в частности ОРВИ и гриппа. Цель данного исследования — подтвердить *in vitro* противовирусную активность лекарственного препарата ВИФЕРОН®, содержащего рекомбинантный человеческий интерферон альфа-2b (IFN α -2b), в отношении SARS-CoV-2. **Материалы и методы.** Культуру клеток Vero CCL-81 заражали штаммом hCoV-19/StPetersburg-R113524VR4/2020 в дозах 10 TCID₅₀ или 100 TCID₅₀ на лунку. Вирус-ингибирующее действие IFN α -2b, экстрагированного из препарата ВИФЕРОН® (суппозитории ректальные) в формах выпуска 150 000 МЕ и 3 000 000 МЕ, оценивали методом qRT-PCR на сроках 24 ч и 48 ч после внесения вируса к клеткам в двух режимах, имитирующих профилактическое (за 24 ч до заражения) и терапевтическое (через 2 ч после заражения) применение препаратов. **Результаты.** IFN α -2b, экстрагированный из препарата ВИФЕРОН® в лекарственной форме «суппозитории ректальные», в концентрациях 800, 400, 200, 100 и 50 МЕ/мл показал высокую биологическую активность, выражающуюся в ингибировании репликации штамма SARS-CoV-2 в обеих заражающих дозах как при оценке через 24 ч, так и через 48 ч после инфицирования клеток. «Профилактическая» схема применения была более эффективной в сравнении с «терапевтической». При профилактической схеме применения инфекционный титр вируса под действием IFN α -2b в концентрации 800 МЕ/мл снижался более чем на 3 lg TCID₅₀ при учете через 24 ч после инфицирования и на 5–6 lg TCID₅₀ при учете через 48 ч. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения лекарственного препарата ВИФЕРОН® в форме ректальных суппозиторий для профилактики и лечения новой коронавирусной инфекции в клинической практике.

Ключевые слова: ВИФЕРОН®, интерферон альфа, COVID-19, SARS-CoV-2, Vero, *in vitro*.

Адрес для переписки:

Бартов Михаил Сергеевич
123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, 18,
ФГБУ НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи
Минздрава России.
Тел.: 8 910 002-29-52. E-mail: mike.bartov@gmail.com

Contacts:

Michael S. Bartov
123098, Russian Federation, Moscow, Gamaleya str., 18,
N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology
and Microbiology.
Phone: +7 910 002-29-52. E-mail: mike.bartov@gmail.com

Для цитирования:

Исакова-Сивак И.Н., Степанова Е.А., Руденко Л.Г., Бартов М.С.,
Выжлова Е.Н., Малиновская В.В. Противовирусная активность
препарата ВИФЕРОН® в форме суппозиторий ректальных *in vitro*
в отношении SARS-CoV-2 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1.
С. 142–148. doi: 10.15789/2220-7619-IVA-1708

Citation:

Isakova-Sivak I.N., Stepanova E.A., Rudenko L.G., Bartov M.S., Vyzhlova E.N.,
Malinovskaya V.V. In vitro antiviral activity of VIFERON® rectal suppositories
against SARS-CoV-2 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya
i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 142–148. doi: 10.15789/2220-7619-
IVA-1708

Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «ФЕРОН».
The work was financially supported by FERON LLC.

IN VITRO ANTIVIRAL ACTIVITY OF VIFERON® RECTAL SUPPOSITORIES AGAINST SARS-CoV-2Isakova-Sivak I.N.^a, Stepanova E.A.^a, Rudenko L.G.^a, Bartov M.S.^b, Vyzhlova E.N.^b, Malinovskaya V.V.^b^a Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation^b N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. In 2020–2021, the world was engulfed by the pandemic of a new coronavirus infection (COVID-19) caused by the SARS-CoV-2 virus. The low population coverage with vaccination against COVID-19 and the lack of herd immunity result in the need to find an effective and safe etiotropic treatment. Medicinal agents for treatment of COVID-19, approved while preparing this publication, have several limitations related to the conditions of their use and/or population category. In this situation, interferon-containing drugs widely used in Russia and the CIS for prevention and treatment of viral infectious diseases, i.e. ARVI and influenza, may hold promise. This study aims to confirm *in vitro* antiviral activity against SARS-CoV-2 for the preparation VIFERON® containing recombinant human interferon alpha-2b (IFN α -2b). **Materials and methods.** Vero CCL-81 cells were infected with hCoV-19/StPetersburg-RH3524VR4/2020 strain of SARS-CoV-2 at doses of 10 TCID₅₀ or 100 TCID₅₀ per well. The suppressive effect of IFN α -2b, extracted from VIFERON® in dosage form of rectal suppositories, was evaluated by qRT-PCR at 24 h and 48 h after the infection of cells in two schemes, simulating preventive (24 h before infection) and therapeutic (2 h after infection) use of drugs. **Results.** IFN α -2b at concentrations of 800, 400, 200, 100 and 50 IU/ml, extracted from rectal suppositories of VIFERON®, showed high biological activity, displayed as inhibition of SARS-CoV-2 strain replication in both infectious doses evaluated either at 24 h or at 48 h after cell infection. The “preventive” vs. “therapeutic” scheme was found to be more effective. In the “preventive” scheme the virus titre decreased by more than 3 lg TCID₅₀ at 24 hours post-infection and by 5–6 lg TCID₅₀ at 48 hours post-infection after administration of 800 IU/ml IFN α -2b. **Conclusion.** The study results evidence that VIFERON® in dosage form of rectal suppositories may be promising for prevention and treatment of new coronavirus infection in clinical practice.

Key words: VIFERON®, interferon alpha, COVID-19, SARS-CoV-2, Vero, *in vitro*.

Введение

В конце 2019 г. человечество столкнулось со штаммом коронавируса SARS-CoV-2, который стал причиной заболевания, названного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) и впоследствии получившего статус пандемии [6, 20, 21]. По состоянию на 12.03.2021 в мире насчитывалось 118,6 млн случаев COVID-19, из них 2,6 млн со смертельным исходом [7]. Распространенность SARS-CoV-2 и схожесть путей его передачи с другими вирусами, вызывающими острые респираторные инфекции (ОРВИ), может привести к тому, что COVID-19 станет сезонным заболеванием [2]. В ряде стран течение заболевания уже приобрело волнообразный характер [11, 13, 17]. Учитывая эти тенденции и сложности глобальной вакцинации населения [4], поиск эффективного средства терапии по-прежнему актуален.

Интерфероны (IFN) давно применяются для профилактики и лечения гриппа и других ОРВИ благодаря их противовирусному и иммуномодулирующему действию [3, 10]. Показано, что IFN α -2b способен ингибировать *in vitro* репликацию генотипически близкого к SARS-CoV-2 коронавируса SARS-CoV [5, 18]. По сообщениям ряда авторов, SARS-CoV-2 чувствительнее к действию IFN I типа, чем SARS-CoV [14, 15]. В исследованиях *in vitro* показана чувствительность SARS-CoV-2 к интерферонам III типа (IFN λ), однако отсутствие на рынке коммерческих препаратов IFN λ не позволяет использовать полученные результаты в широ-

кой практике [9]. Данные о высокой противовирусной активности человеческих рекомбинантных интерферонов альфа (IFN α -1b, IFN α -2a и IFN α -2b), широко используемых в клинической практике, позволяют считать их более перспективными кандидатами для лечения COVID-19 [12, 16].

Цель настоящей работы — подтвердить активность лекарственного препарата ВИФЕРОН®, содержащего человеческий рекомбинантный IFN α -2b, против коронавируса SARS-CoV-2.

Материалы и методы

Культура клеток и их культивирование. Оценку вирус-ингибирующего действия препаратов проводили на перевиваемой линии клеток почки африканской зеленой мартышки Vero (ATCC CCL-81™). Культивирование клеток Vero осуществляли путем их пересева во флаконы T-75 (Orange Scientific, Бельгия) один раз в 3–4 дня при использовании раствора Трипсина–Версена (1:1) (ООО «Биолот», Россия). После отслаивания клеток с поверхности во флакон добавляли ростовую среду DMEM (Capricorn Scientific, Германия), содержащую 10% сыворотки эмбрионов коров (FBS) и 1× раствор антибиотика-антимикотика Gibco™ Anti-Anti (Thermo Fisher Scientific, США) до концентрации около 0,5–1,0 × 10⁶ клеток на 1 мл взвеси. Клетки рассевали на 96-луночные планшеты (Eppendorf, Германия) в посевной дозе 2 × 10⁴ клеток на лунку в объеме среды 150 мкл. Монослой клеток в лунках планшета формировался в течение 24 ч в атмосфере 5% CO₂.

Штамм вируса и его разведение. Для инфицирования клеток использовали вирус SARS-CoV-2, штамм hCoV-19/StPetersburg-R113524VR4/2020 (GISAID: EPI_ISL_507291). Штамм был выделен сотрудниками ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева в 2020 г. на территории Санкт-Петербурга и передан в коллекцию вирусов отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ Институт экспериментальной медицины (ФГБНУ ИЭМ). Для заражения исходный вирус-содержащий раствор разводили до 1×10^2 и 1×10^3 TCID₅₀/мл, что соответствовало дозам 10 и 100 TCID₅₀ на лунку. Экспериментальная работа с вирусом SARS-CoV-2 проводилась в лаборатории 3-го уровня биологической безопасности (BSL-3) вирусологического лабораторного комплекса ФГБНУ ИЭМ.

Тестируемые препараты. В работе исследовали вирус-ингибирующую активность лекарственного препарата ВИФЕРОН® (ООО «ФЕРОН», Россия) и субстанцию интерферона альфа-2b человеческого рекомбинантного безметионинового (ООО «ФАРМАПАРК», Россия):

- группа 1 — ВИФЕРОН®, суппозитории ректальные, 150 000 МЕ;
- группа 2 — ВИФЕРОН®, суппозитории ректальные, 3 000 000 МЕ;
- группа 3 — интерферон альфа-2b, субстанция-раствор (специфическая активность $3,8 \times 10^8$ МЕ/мл).

Для исследования на культуре клеток из суппозиторий экстрагировали IFN α -2b и готовили стоковый раствор с концентрацией 8000 МЕ/мл. Из раствора субстанции IFN α -2b аналогично готовили стоковый раствор с той же концентрацией. Далее полученные стоковые растворы последовательно разводили поддерживающей питательной средой (ППС) (DMEM + антибиотик-антимикотик + 2% FBS + 10 мМ НЕПЕС [Thermo Fisher Scientific, США]) до конечной концентрации IFN α -2b 800, 400, 200, 100 и 50 МЕ/мл.

Схема внесения препаратов в культуру клеток. В работе исследовали две схемы, «профилактическую» и «терапевтическую», отличающиеся временем внесения препаратов по отношению к моменту инфицирования клеток вирусом. Учет вирус-ингибирующего действия препаратов оценивали через 24 ч и через 48 ч после заражения клеток вирусом.

При «профилактической» схеме препараты добавляли за 24 ч до внесения вируса. Из четырех 96-луночных планшетов со сформированным монослоем клеток удаляли ростовую среду, вносили идентичные концентрации испытуемых растворов в объеме 100 мкл в триплекатах и инкубировали в течение 24 ч. После этого препараты удаляли и к клеткам добавляли вирус в дозе 10 TCID₅₀ (2 планшета) или 100

TCID₅₀ (2 планшета). В опытные лунки добавляли по 100 мкл соответствующего разведения вируса, в контрольные лунки — ППС без вируса и далее инкубировали планшеты при 37°C и 5% CO₂ в течение 2 ч. Затем инокулят удаляли и добавляли к клеткам 150 мкл ППС. Планшеты инкубировали при 37°C и 5% CO₂.

При «терапевтической» схеме препараты добавляли через 2 ч после внесения вируса. Из четырех 96-луночных планшетов со сформированным монослоем клеток удаляли ростовую среду, вносили 100 мкл разведения вируса в инфицирующей дозе 10 или 100 TCID₅₀ по описанной выше схеме. Клетки инкубировали с вирусом при 37°C и 5% CO₂ в течение 2 ч. Затем разведение вируса удаляли и вносили приготовленные испытуемые растворы препаратов с концентрациями от 800 до 50 МЕ/мл в объеме 150 мкл на лунку в триплекатах.

Учет результатов. В каждой схеме внесения IFN α -2b для каждой инфицирующей дозы вируса оценку вирусного титра проводили через 24 ч и 48 ч после инфицирования методом qRT-PCR по Wang M. [19]. В качестве референс-контроля использовали образец вируса SARS-CoV-2 с титром 5×10^6 TCID₅₀/мл. Для выделения РНК применяли «Набор для выделения РНК из клеток животных/бактерий, мазка/соскоба эпителиальных клеток, вирусов на колонках» (ООО «Биолабмикс», Россия). Постановку реакции qRT-PCR проводили с использованием набора OneTube RT-PCR SYBR (ЗАО «Евроген», Россия) в амплификаторе QuantStudio 1 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, США). Чувствительность метода составила 50 TCID₅₀/мл.

Обработка и анализ данных. Для проведения сравнительного статистического анализа данных использовали GraphPad Prism 9.0.0 (GraphPad Software, США). Различия принимали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты qRT-PCR сравнивали между группами с помощью двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA. Различия между экспериментальными группами и контролем выявляли в апостериорном тесте Даннета. Для построения графиков титров вируса данные логарифмировали и представляли в виде среднего арифметического значения (M) и стандартной ошибки среднего (SE).

Результаты

Принцип оценки вирус-ингибирующей активности тестируемых препаратов IFN α -2b основан на выявлении снижения титра вируса под воздействием исследуемых препаратов в культуре клеток. На рис. 1 и 2 представлены результаты оценки титра вируса SARS-CoV-2 в контрольных лунках на культуре клеток, не обработанных препаратами IFN α -2b, и результаты, полу-

ченные на культуре клеток под воздействием IFN α -2b в различных концентрациях.

Противовирусная активность при «профилактической» схеме. Результаты оценки вирусингибирующего действия тестируемых препаратов IFN α -2b (ВИФЕРОН®, суппозитории ректальные, и субстанция IFN α -2b) при внесении за 24 ч до заражения SARS-CoV-2 представлены на рис. 1.

При заражающей дозе вируса 10 TCID₅₀ при оценке через 24 ч после инфицирования все тестируемые препараты, включая субстанцию IFN α -2b во всех концентрациях от 50 до 800 МЕ/мл, ингибировали репликацию вируса в клетках вплоть до предела чувствительности метода. Через 48 ч после инфицирования дозой 10 TCID₅₀ в лунках планшета наблюдали небольшое количество РНК вируса, но на не-

сколько порядков ниже, чем в контрольных лунках. Аналогичным образом практически полное ингибирование вируса наблюдали при заражающей дозе 100 TCID₅₀ при оценке через 24 ч после инфицирования. Анализ результатов через 48 ч после заражения клеток дозой 100 TCID₅₀ позволил установить дозозависимые эффекты тестируемых препаратов: наибольшая концентрация IFN α -2b обладала более выраженной активностью, а концентрация 50 МЕ/мл снижала инфекционную активность вируса на 1,5 порядка (в 15 раз). Причем максимальная концентрация IFN α -2b, равная 800 МЕ/мл, позволила практически полностью ингибировать репликацию вируса в клетках вплоть до предела чувствительности метода. Разницы в активности препаратов IFN α -2b и субстанции IFN α -2b не выявлено.

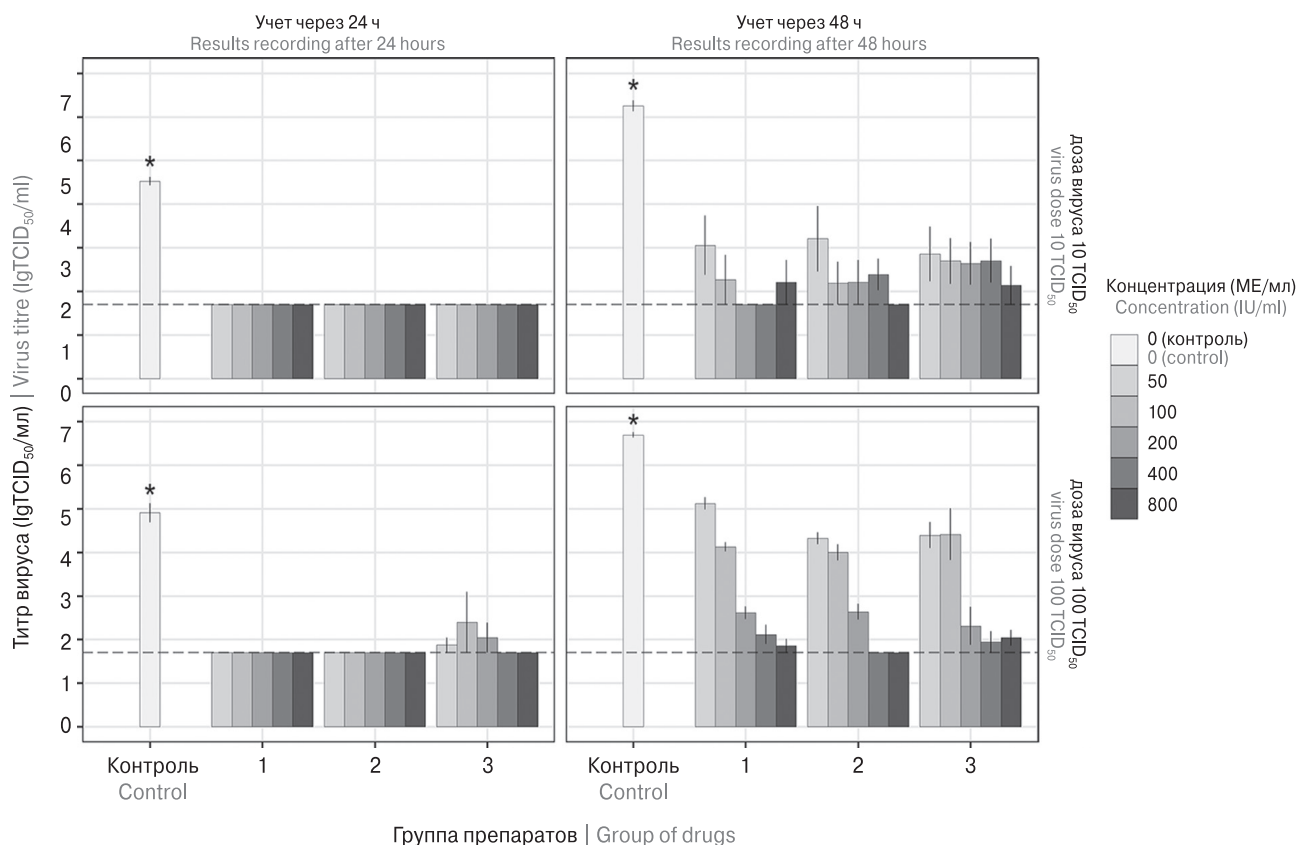


Рисунок 1. Инфекционная активность вируса SARS-CoV-2 в зависимости от группы и концентрации препаратов, дозы вируса и времени учета результатов при обработке за 24 ч до заражения

Figure 1. Infectious activity of the SARS-CoV-2 related to the group and drug concentration, virus dose and time points after therapeutic exposure 24 hours before infection

Примечания. Группы препаратов: контроль — вирус без внесения препаратов, группа 1 — IFN α -2b, экстрагированный из ВИФЕРОНА® в форме суппозитория ректального 150 000 МЕ; группа 2 — IFN α -2b, экстрагированный из ВИФЕРОНА® в форме суппозитория ректального 3 000 000 МЕ; группа 3 — субстанция IFN α -2b. Условные обозначения: М — высота столбцов, SE — отрезки, * — отличие от контроля ($p < 0,05$), пунктирная линия — чувствительность qRT-PCR.

Notes. Groups of drugs: control — virus without drug administration, group 1 — IFN α -2b extracted from VIFERON® rectal suppositories 150 000 IU; group 2 — IFN α -2b extracted from VIFERON® rectal suppositories 3 000 000 IU; group 3 — substance of IFN α -2b. Symbols: M — column height, SE — line segments, * — difference from the control ($p < 0.05$), dashed line — qRT-PCR sensitivity.

Противовирусная активность при «терапевтической» схеме. Результаты оценки вирус-ингибирующего действия тестируемых препаратов IFN α -2b (ВИФЕРОН[®], суппозитории ректальные, и субстанция IFN α -2b) при внесении через 2 ч после заражения SARS-CoV-2 представлены на рис. 2.

При исследовании вирус-ингибирующей активности препаратов IFN α -2b при внесении через 2 ч после заражения культуры клеток вирусом SARS-CoV-2 наблюдали снижение инфекционной дозы вируса при учете через 24 ч и через 48 ч после заражения. При инфицировании дозой 10 TCID₅₀ при учете через 24 ч после заражения наблюдали практически полное подавление вирусной активности на грани чувствительности метода для всех препаратов и всех исследуемых концентраций. При учете

через 48 ч после заражения дозой 10 TCID₅₀ наблюдали снижение активности для меньших концентраций при сохранении практически полного ингибирования активности вируса для максимальных концентраций 800 МЕ/мл. При исследовании дозы вируса 100 TCID₅₀ при учете через 24 ч после инфицирования наблюдали ингибирование активности вируса для всего исследуемого диапазона концентраций, выявленная разница между отдельными концентрациями, скорее всего, носит случайный характер. При оценке через 48 ч после заражения дозой 100 TCID₅₀ также установлена концентрационная зависимость проявляемого противовирусного эффекта: для меньших концентраций выявлено снижение инфекционной дозы вируса на 2–2,5 порядка (в 100–150 раз). Для максимальной концентрации 800 МЕ/мл

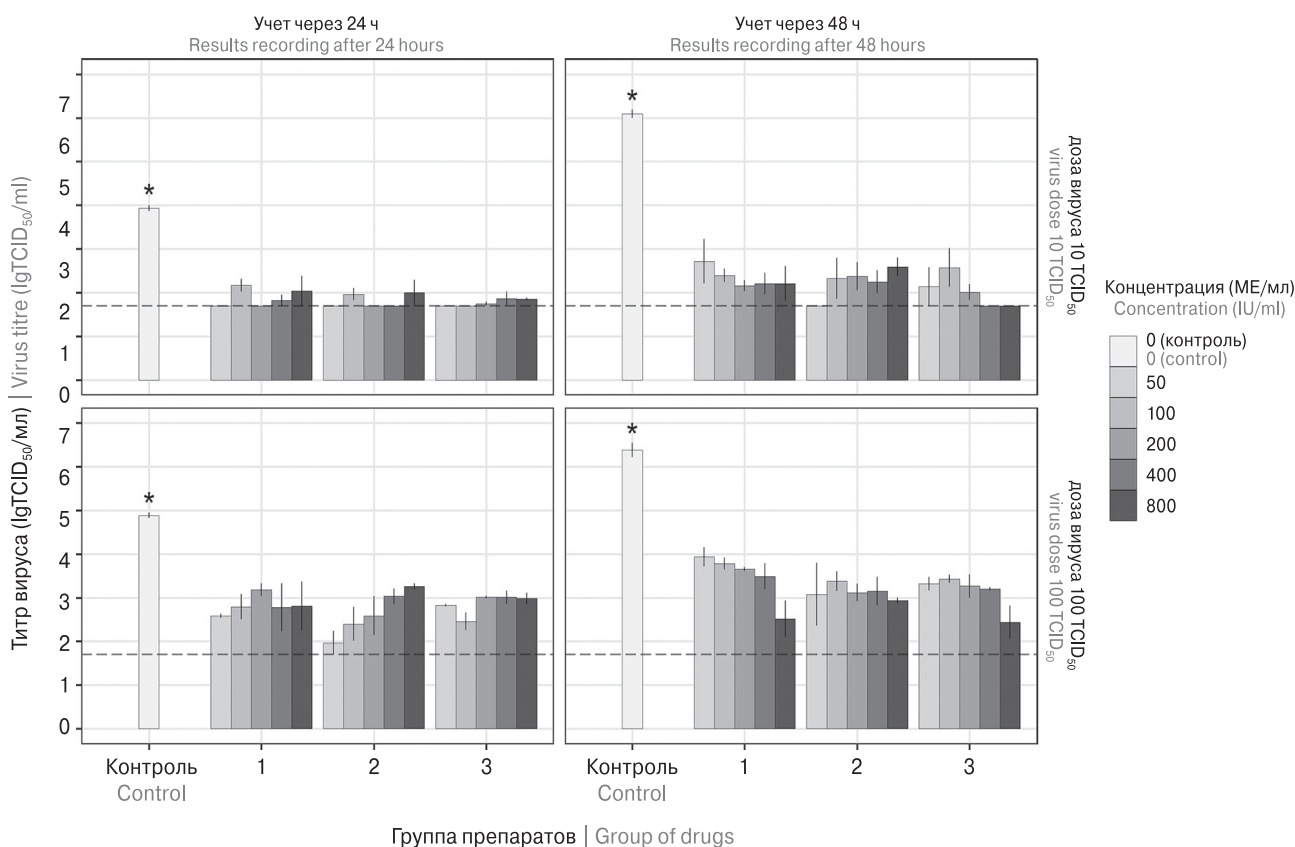


Рисунок 2. Инфекционная активность вируса SARS-CoV-2 в зависимости от группы и концентрации препаратов, дозы вируса и времени учета результатов при обработке через 2 ч после заражения
 Figure 2. Infectious activity of the SARS-CoV-2 related to the group and drug concentration, virus dose and time points after drug administration at 2 hours post-infection

Примечания. Группы препаратов: контроль — вирус без внесения препаратов, группа 1 — IFN α -2b, экстрагированный из ВИФЕРОНА[®] в форме суппозитория ректальных 150 000 МЕ; группа 2 — IFN α -2b, экстрагированный из ВИФЕРОНА[®] в форме суппозитория ректальных 3 000 000 МЕ; группа 3 — субстанция IFN α -2b. Условные обозначения: М — высота столбцов, SE — отрезки, * — отличие от контроля ($p < 0,05$), пунктирная линия — чувствительность qRT-PCR.

Notes. Groups of drugs: control — virus without drug administration, group 1 — IFN α -2b extracted from VIFERON[®] rectal suppositories 150 000 IU; group 2 — IFN α -2b extracted from VIFERON[®] rectal suppositories 3 000 000 IU; group 3 — substance of IFN α -2b. Symbols: M — column height, SE — line segments, * — difference from the control ($p < 0.05$), dashed line — qRT-PCR sensitivity.

отмечен максимальный противовирусный эффект, выраженный в снижении инфекционной дозы вируса более чем на 3 порядка (более чем в 1000 раз). Разницы в активности препаратов IFN α -2b и субстанции IFN α -2b не выявлено.

Обсуждение

В настоящей работе изучалось вирусингибирующее действие *in vitro* препарата ВИФЕРОН®, содержащего человеческий рекомбинантный IFN α -2b, и субстанции IFN α -2b в отношении коронавируса SARS-CoV-2. В качестве тест-системы использовалась перевиваемая линия клеток Vero-CCL-81, чувствительная к действию IFN, но не способная самостоятельно его продуцировать [8].

По результатам исследования показана существенная вирусингибирующая активность IFN α -2b во всех исследованных концентрациях независимо от схемы внесения препаратов. Разницы в противовирусной активности готовой лекарственной формы IFN α -2b ВИФЕРОНА® (суппозитории ректальные) и субстанции IFN α -2b не выявлено. При использовании дозы вируса 100 TCID₅₀ и внесении препаратов по «профилактической» схеме за 24 ч до инфицирования при учете результатов через 48 ч после внесения вируса показан дозозависимый эффект подавления вирусной репродукции: концентрация 800 МЕ/мл практически полностью ингибировала вирусную активность, а концентрации 50–100 МЕ/мл позволяли только незначительно снизить активность вируса. При заражении клеток вирусом в меньшей дозе, 10 TCID₅₀, все тестируемые объекты даже в наименьшей концентрации 50 МЕ/мл подавляли репродукцию SARS-CoV-2 более чем в 1000 раз, что указывает на их высокую противовирусную активность и согласуется с данными других авторов [12, 15].

Выявленная дозозависимая вирусингибирующая активность у тестируемых препаратов IFN α -2b может свидетельствовать о различных эффективных дозах, которые могут быть использованы для терапии и профилактики. На основании полученных данных можно рекомендовать использовать более высокие дозы препаратов IFN α -2b в случае повышенного риска инфицирования SARS-CoV-2: например, в случае непосредственного контакта с больным SARS-CoV-2 или в случае посещения общественных мест.

Рост титра вируса в обработанных IFN α -2b лунках планшета через 48 ч после инфицирования свидетельствует об окончании противовирусного действия IFN α -2b и обосновывает его повторное введение. С точки зрения клинического применения это означает необходимость применения IFN α -2b-содержащих препаратов не реже одного раза в сутки для поддержания эффективной концентрации и проявления необходимого эффекта.

Заключение

Положительные результаты исследования противовирусной активности IFN α -2b, экстрагированного из готовой лекарственной формы препарата ВИФЕРОН® (суппозитории ректальные), делают перспективным его применение в клинической практике для профилактики и лечения COVID-19. Сообщается об успешном опыте применения препарата для профилактики среди медицинских работников, контактирующих с больными COVID-19 [1].

Благодарности

Авторы выражают признательность коллективу ООО «ИДКИ» за подготовку стоковых растворов и общую координацию работ.

Список литературы/References

1. Понежева Ж.Б., Гришаева А.А., Маннанова И.В., Купченко А.Н., Яцышина С.Б., Краснова С.В., Малиновская В.В., Акимкин В.Г. Профилактическая эффективность рекомбинантного интерферона α -2b в условиях пандемии COVID-19 // *Лечащий врач*. 2020. Т. 12, № 23. С. 56–60. [Ponezheva Zh.B., Grishaeva A.A., Mannanova I.V., Kupchenko A.N., Yatsyshina S.B., Krasnova S.V., Malynovskaya V.V., Akimkin V.G. Preventive efficacy of interferon alpha-2b in the COVID-19 pandemic. *Lechaschy vrach = Attending Physician*, 2020, vol. 12, no. 23, pp. 56–60. (In Russ.)] doi: 10.26295/OS.2020.29.66.011
2. Audi A., AlIbrahim M., Kaddoura M., Hijazi G., Yassine H.M., Zaraket H. Seasonality of respiratory viral infections: will COVID-19 follow suit? *Front. Public Health*, 2020, vol. 8: 567184. doi: 10.3389/fpubh.2020.567184
3. Beilharz M.W., Cummins M.J., Bennett A.L., Cummins J.M. Oromucosal administration of interferon to humans. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2010, vol. 3, no. 2, pp. 323–344. doi: 10.3390/ph3020323
4. Burki T.K. Challenges in the rollout of COVID-19 vaccines worldwide. *Lancet Respir. Med.*, 2021, vol. 9, no. 4, pp. e42–e43. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00129-6
5. Cinatl J., Morgenstern B., Bauer G., Chandra P., Rabenau H., Doerr H.W. Treatment of SARS with human interferons. *Lancet*, 2003, vol. 362, no. 9380, pp. 293–294. doi: 10.1016/s0140-6736(03)13973-6
6. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.*, 2020, vol. 5, no. 4, pp. 536–544. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z
7. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). URL: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>

8. Desmyter J., Melnick J.L., Rawls W.E. Defectiveness of interferon production and of rubella virus interference in a line of african green monkey kidney cells (Vero). *J. Virol.*, 1968, vol. 2, no. 10, pp. 955–961. doi: 10.1128/JVI.2.10.955-961.1968
9. Felgenhauer U., Schoen A., Gad H.H., Hartmann R., Schaubmar A.R., Failing K., Drosten C., Weber F. Inhibition of SARS-CoV-2 by type I and type III interferons. *J. Biol. Chem.*, 2020, vol. 295, no. 41, pp. 13958–13964. doi: 10.1074/jbc.AC120.013788
10. Gao L., Yu S., Chen Q., Duan Z., Zhou J., Mao C., Yu D., Zhu W., Nie J., Hou Y. A randomized controlled trial of low-dose recombinant human interferons alpha-2b nasal spray to prevent acute viral respiratory infections in military recruits. *Vaccine*, 2010, vol. 28, no. 28, pp. 4445–4451. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.03.062
11. Graichen H. What is the difference between the first and the second/third wave of COVID-19? — German perspective. *J. Orthop.*, 2021, vol. 24, pp. A1–A3. doi: 10.1016/j.jor.2021.01.011
12. Ianevski A., Yao R., Zusinaite E., Lello L.S., Wang S., Jo E., Yang J., Lysvand H., Løseth K., Oksenysh V., Tenson T., Windisch M.P., Poranen M., Nieminen A.I., Nordbø S.A., Fenstad M.H., Grødeland G., Aukrust P., Trøseid M., Kantele A., Merits A., Bjørås M., Kainov D.E. Synergistic interferon alpha-based drug combinations inhibit SARS-CoV-2 and other viral infections in vitro. *bioRxiv*, 2021: 2021.01.05.425331.
13. Karako K., Song P., Chen Y., Tang W., Kokudo N. Overview of the characteristics of and responses to the three waves of COVID-19 in Japan during 2020–2021. *Biosci. Trends*, 2021, vol. 15, no. 1, pp. 1–8. doi: 10.5582/bst.2021.01019
14. Lokugamage K.G., Hage A., de Vries M., Valero-Jimenez A.M., Schindewolf C., Dittmann M., Rajsbaum R., Menachery V.D. Type I interferon susceptibility distinguishes SARS-CoV-2 from SARS-CoV. *J. Virol.*, 2020, vol. 94, no. 23: e01410–20.
15. Mantlo E., Bukreyeva N., Maruyama J., Paessler S., Huang C. Antiviral activities of type I interferons to SARS-CoV-2 infection. *Antiviral Res.*, 2020, vol. 179: 104811. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104811
16. 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
17. Seong H., Hyun H.J., Yun J.G., Noh J.Y., Cheong H.J., Kim W.J., Song J.Y. Comparison of the second and third waves of the COVID-19 pandemic in South Korea: importance of early public health intervention. *Int. J. Infect. Dis.*, 2021, vol. 104, pp. 742–745. doi: 10.1016/j.ijid.2021.02.004
18. Stockman L.J., Bellamy R., Garner P. SARS: systematic review of treatment effects. *PLoS Med.*, 2006, vol. 3, no. 9: e343. doi: 10.1371/journal.pmed.0030343
19. 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
20. WHO. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): situation report, 51. *WHO*, 2020. 9 p.
21. WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV): situation report, 22. *WHO*, 2020. 7 p.

Авторы:

Исакова-Сивак И.Н., д.б.н., зав. лабораторией иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

Степанова Е.А., к.б.н., старший научный сотрудник отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

Руденко Л.Г., д.м.н., профессор, зав. отделом вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

Бартов М.С., к.б.н., научный сотрудник лаборатории биологически активных наноструктур ФГБУ НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия;

Выжлова Е.Н., к.б.н., научный сотрудник лаборатории онтогенеза и коррекции системы интерферонов ФГБУ НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия;

Малиновская В.В., д.б.н., профессор, руководитель лаборатории онтогенеза и коррекции системы интерферонов ФГБУ НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия.

Authors:

Isakova-Sivak I.N., PhD, MD (Biology), Head of the Laboratory of Immunology and Prevention of Viral Infections, A.A. Smorodintsev Department of Virology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;

Stepanova E.A., PhD (Biology), Senior Researcher, A.A. Smorodintsev Department of Virology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;

Rudenko L.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of A.A. Smorodintsev Department of Virology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;

Bartov M.S., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Biologically Active Nanostructures, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Vyzhlova E.N., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Ontogenesis and Interferon System Remediation, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Malinovskaya V.V., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Ontogenesis and Interferon System Remediation, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.

ГРИБКОВАЯ АЛЛЕРГИЯ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ И ПСОРИАЗОМ

А.А. Барило, С.В. Смирнова

НИИ медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, г. Красноярск, Россия

Резюме. Изучение роли грибковой аллергии в развитии атопического дерматита (АтД) и псориаза (ПС) представляет особый интерес и определяет актуальность проведенного исследования. Цель работы — изучить и провести сравнительный анализ спектра сенсибилизации к грибковым аллергенам больных атопическим дерматитом и псориазом. *Материалы и методы.* В исследовании приняли участие больные АтД (I группа, n = 53, средний возраст $33,0 \pm 1,3$ лет) и ПС (II группа, n = 53, средний возраст $40,0 \pm 1,8$ лет) в возрасте от 18 до 66 лет. Определение сенсибилизации к грибковым аллергенам проводилось методом кожного prick-тестирования с использованием стандартизованных грибковых аллергенов: *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum* (Allergopharma, Германия) и пищевых дрожжей (Микроген, Россия). Методом непрямого иммунофлуоресцентного анализа на полуавтоматическом анализаторе Multiskan FC (ThermoFisher Scientific, Финляндия) была определена концентрация аллерген-специфических IgE к смеси грибковых аллергенов: *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor racemosus*, *Alternaria alternata* (Алкор Био, Россия). Тест считался положительным при уровне IgE $\geq 0,35$ кЕ/л. Для статистического анализа применяли пакет прикладных программ Statistica 8.0. *Результаты и обсуждение.* При изучении особенностей сенсибилизации к грибковым аллергенам определено, что в группе больных АтД отмечается наиболее высокая частота сенсибилизации к пищевым дрожжам, а также к грибкам рода *Alternaria alternata* и *Cladosporium herbarum*. В группе больных ПС установлена наиболее высокая частота сенсибилизации к грибкам рода *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus* и *Alternaria alternata*. При изучении межгрупповых различий определено, что частота сенсибилизации к грибкам была выше в группе больных ПС, чем в группе больных АтД, однако статистической значимости показатели не достигли. Сенсибилизация к смеси плесневых аллергенов, согласно концентрации аллерген-специфических IgE, была чаще отмечена в группе больных АтД в сравнении с группой больных ПС: 15% против 5,3%. Вероятнее всего, развитие АтД и ПС связано с участием другого класса реактинов (IgG4) или с вовлечением иных иммунопатологических механизмов запуска аллергии (по классификации Джелла и Кумбса). Таким образом, грибковая аллергия может играть важную роль в этиопатогенезе атопического дерматита и псориаза. Проведенное нами исследование может ориентировать клиницистов в плане персонализированных подходов к диагностике и лечению данных патологий с включением специфического аллергологического обследования больных АтД и ПС.

Ключевые слова: атопический дерматит, аллергия, аллергены, сенсибилизация, псориаз.

Адрес для переписки:

Барило Анна Александровна
660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г,
НИИ медицинских проблем Севера — обособленное
подразделение ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр
Сибирского отделения РАН.
Тел.: 8 391 228-060-83.
E-mail: anntomsk@yandex.ru

Contacts:

Anna A. Barilo
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk,
Partizana Zheleznyaka str., 3g, Scientific Research Institute of Medical
Problems of the North, Federal Research Center Krasnoyarsk Science
Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.
Phone: +7 391 228-060-83.
E-mail: anntomsk@yandex.ru

Для цитирования:

Барило А.А., Смирнова С.В. Грибковая аллергия у больных атопическим дерматитом и псориазом // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 149–157. doi: 10.15789/2220-7619-FAI-1707

Citation:

Barilo A.A., Smirnova S.V. Fungal allergies in patients with atopic dermatitis and psoriasis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 149–157. doi: 10.15789/2220-7619-FAI-1707

Исследование выполнено при поддержке Совета по грантам при Президенте РФ (МК-396.2020.7).

The study was supported by the Council for Grants under the President of the Russian Federation (MK-396.2020.7).

FUNGAL ALLERGIES IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS AND PSORIASIS

Barilo A.A., Smirnova S.V.

Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Federal Research Center Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. Examining a role of fungal allergy in the development of atopic dermatitis (AD) and psoriasis (PS) is of particular interest and determines the relevance of the current study. The purpose of the study is to analyze and carry out a comparative analysis for multiple sensitizations to fungal allergens in patients with AD and PS. *Materials and methods.* The study involved patients with atopic dermatitis (group 1, n = 53, mean age 33.0±1.3 years) and psoriasis (group 2, n = 53, mean age 40.0±1.8 years) aged from 18 to 66 years old. Sensitization to fungal allergens was assessed by skin prick testing with standardized fungal allergens: *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum* (Allergopharma, Germany) and nutritional yeast (Microgen, Russia). The concentration of allergen-specific IgE to a mixture of fungal allergens: *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor racemosus*, *Alternaria alternata* (Alkor Bio, Russia) was determined by the method of indirect immunofluorescence analysis on a semi-automatic analyzer Multiskan FC (ThermoFisher Scientific, Finland). The test was considered positive at an IgE level of ≥ 0.35 kE/L. Statistica 8.0 software package was used for statistical analysis. *Results and discussion.* When studying the features of sensitization to fungal allergens, it was determined that in the group of patients with AD was the highest frequency of sensitization to nutritional yeast, as well as fungi of the genus *Alternaria alternata* and *Cladosporium herbarum*. In the group of PS patients, the highest frequency of sensitization to fungi of the genus *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus* and *Alternaria alternata* was found. When studying intergroup differences, it was determined that the rate of sensitization to fungi was insignificantly higher in the group of patients with PS in comparison with AD. Sensitization to a mixture of fungal allergens based on the concentration of allergen-specific IgE was more often observed in the group of AD patients vs. patients with PS: 15% versus 5,3%. Most likely, reagents of a different class (IgG4) can participate in the development of AD and PS, or other immunopathological mechanisms of allergy triggering (according to the Gell and Coombs classification) can be involved. Thus, fungal allergy may play an important role in the etiopathogenesis of atopic dermatitis and psoriasis. Our research can guide clinicians in terms of personalized approaches to the diagnosis and treatment of these pathologies, including specific allergological examination, not only for patients with AD, but also for those with PS.

Key words: atopic dermatitis, allergy, allergens, sensitization, psoriasis.

Введение

Кожа человека является самым большим по площади барьерным органом, взаимодействующим с окружающей средой, и местом обитания множества различных симбиотических микроорганизмов [29]. Микробиом кожи отличается видовым разнообразием и характеризуется наличием бактерий, вирусов, грибов и паразитов, которые могут играть важную роль в этиопатогенезе дерматологических заболеваний [11, 13, 20, 27]. В литературе все чаще встречаются данные о влиянии изменения микробиома организма человека, в том числе бактериальной микрофлоры кожи, на развитие атопического дерматита (АтД) и псориаза (ПС) [7, 20, 22, 24, 26, 31]. В свою очередь, врожденный или приобретенный дефект рогового слоя эпидермиса при АтД и ПС способствует изменению видового разнообразия микробиома кожи, что приводит к нарушению барьерной функции кожного покрова и хронизации воспалительного процесса [22, 30, 33].

Резидентная микрофлора кожи является протективной в отношении роста патогенных микроорганизмов и влияет на силу и интенсивность иммунного ответа [23, 26, 27, 28]. Следовательно, микробиом кожи способствует функционированию иммунной системы, индуцируя Т- и В-клет-

ки, контролирующей функциональную активность органов и систем [13, 18, 29, 33].

Данные относительно грибковой микрофлоры кожи крайне немногочисленны. Несмотря на то что проведенные ранее исследования доказывают протективную роль грибов (комменсалов) в развитии воспалительных процессов в кишечнике и легких, участие условно-патогенных грибов в гомеостазе кожи и этиопатогенезе дерматологических заболеваний остается неясным [20, 21, 23]. Между тем известно, что грибки, являясь важной составляющей частью микробиома кожи и кишечника, могут выступать в роли аллергенов с развитием сенсибилизации и формированием аллергического воспаления у больных АтД и ПС, однако данный вопрос остается открытым как в фундаментальных исследованиях, так и в клинической практике [5, 17, 23].

В связи с тем, что антигены грибов (ферменты, токсины, компоненты клеточной стенки, перекрестно-реагирующие белки) обладают высокой сенсибилизирующей способностью с активацией инфекционно-аллергических механизмов, при участии Т-лимфоцитов происходит нарушение пролиферации и дифференцировки клеток эпидермиса [10, 13, 23]. Есть данные об ассоциации измененного грибкового микробиома кожи с ПС [14, 21, 22, 25]. Для кожи больных ПС характерна активная колонизация

грибковой флорой, в том числе грибами рода *Candida* [21]. Грибки, колонизирующие кожу, способствуют активации Th17-лимфоцитов [30, 34]. Особый интерес представляет тот факт, что большая часть циркулирующих Th17-клонов реагирует в ответ на грибковые антигены и, в частности, специфична для *Candida albicans* [30]. Потенциальная роль *Candida albicans* в развитии ПС подтверждается снижением активности воспалительного процесса в очагах поражения кожи при проведении этиотропной терапии системными антимикотическими препаратами [21].

Воздействие грибковых компонентов, включая споры внутри и вне помещений, является провоцирующим фактором респираторной аллергии (бронхиальной астмы и аллергического ринита), а также АтД, с формированием в ряде случаев дерматореспираторного синдрома [17, 19]. Микробиом очагов поражения кожи при АтД характеризуется малым видовым разнообразием бактерий, снижением количества протеобактерий, повышенной колонизацией грибами рода *Candida* и *Malassezia* [20, 24]. Установлено, что сенсибилизация к грибкам при АтД составляет около 30%, вне зависимости от тяжести заболевания [17]. Патогенез АтД при грибковой аллергии может быть связан как с IgE-, так и с не-IgE-опосредованными механизмами [24]. Показано, что специфичные к грибкам Th17-лимфоциты могут перекрестно реагировать на антигены, экспрессируемые различными грибами, особенно при воспалительных заболеваниях дыхательных путей [13].

Среди более чем 100 тыс. видов грибов известно несколько сотен условно-патогенных классов, оказывающих влияние на развитие заболеваний кожи, представителями которых являются *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum* и др. [10, 23].

Следовательно, изучение роли грибковой аллергии в развитии повреждений кожи представляет особый интерес и определяет актуальность проведенного исследования. Согласно современным представлениям, ПС и АтД являются системными хроническими воспалительными заболеваниями кожи [3, 4, 8, 9, 12]. Отсутствие эффективных этиотропных и патогенетических методов лечения ПС обуславливает необходимость поиска новых подходов к изучению его этиопатогенеза, в том числе с позиции причинно-следственной взаимосвязи ПС и грибковой аллергии. Ключевая роль иммунной системы в развитии иммуноопосредованных патологий, в частности повреждения кожи при ПС и АтД, послужило обоснованием изучения и сравнительного анализа спектра сенсибилизации к грибковым аллергенам у больных АтД и ПС в нашем исследовании, что и стало его целью.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие больные atopическим дерматитом (I группа, $n = 53$, средний возраст $33,0 \pm 1,3$ лет) и псориазом (II группа, $n = 53$, средний возраст $40,0 \pm 1,8$ лет) в возрасте от 18 до 66 лет. В обеих группах больных чаще встречались женщины: в группе больных АтД — в 67,9% ($n = 36$) случаев, в группе больных ПС — в 52,3% ($n = 28$). Степень тяжести кожного процесса у больных АтД оценивалась с применением индекса SCORAD (Scoring of atopic dermatitis). Среднее значение индекса SCORAD в группе больных АтД составило $21,4$ [6,3; 41,8]. Основным диагностическим критерием ПС было обнаружение триады феноменов: стеаринового пятна, терминальной пленки и точечного кровотечения, наблюдаемых при соскабливании чешуек. Степень тяжести кожного процесса у больных ПС оценивалась с применением индекса PASI (Psoriasis area and severity index). Среднее значение индекса PASI в группе больных ПС составило $11,2$ [7,8; 21,6].

Проведено специфическое аллергологическое обследование (сбор аллергологического анамнеза, определение сенсибилизации к грибковым аллергенам методом кожного prick-тестирования с учетом размера волдырной реакции и величины гиперемии: слабоположительная реакция — 3–5 мм (+), положительная — 6–9 мм (++), резко положительная — 10–14 мм (+++), гиперергическая — 15 и более мм (++++)). При проведении prick-тестов были использованы стандартизованные грибковые аллергены: *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum* (Allergopharma, Германия) и пищевые дрожжи (Микроген, Россия). Специфическое аллергологическое обследование проведено врачом-аллергологом-иммунологом. Противопоказаниями к кожному тестированию являлись: наличие в анамнезе анафилактических реакций, прием бета-блокаторов, выраженное обострение аллергического заболевания, дермографическая крапивница, прием антигистаминных препаратов, антидепрессантов, системных и местных глюкокортикостероидов в течение 14 дней до исследования.

Методом непрямого иммунофлуоресцентного анализа на полуавтоматическом анализаторе Multiskan FC (ThermoFisher Scientific, Финляндия) была определена концентрация аллерген-специфических IgE к смеси грибковых аллергенов: *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor racemosus*, *Alternaria alternata* (Алкор Био, Россия). Тест считался положительным при уровне $IgE \geq 0,35$ кЕ/л.

Для статистического анализа применяли пакет прикладных программ Statistica 8.0.

Статистическую обработку данных проводили методами вариационного анализа с использованием t-критерия для качественных признаков. Показатели считались статистически значимыми при $p < 0,05$. При анализе качественных признаков проводилась оценка относительной частоты признака (распространенность) P , определялась средняя ошибка доли m . При $P = 100$ или 0 для вычисления выборочной ошибки доли m применялась методика Л.С. Каминского [6]. При проверке нулевой гипотезы о равенстве долей применялся Z-критерий.

Результаты

При анализе данных аллергологического анамнеза в группе больных атопическим дерматитом в 84,9% ($n = 45$) случаев установлено наличие аллергических реакций на пищевые продукты и медикаменты, инсектная аллергия, эпизоды крапивницы. Респираторные проявления аллергии в виде аллергического ринита выявлены у 66% ($n = 35$) больных атопическим дерматитом. Отягощенный наследственный аллергологический анамнез (аллергические реакции и/или заболевания у близких родственников) выявлен в 50,9% ($n = 27$) случаев. Сезонные проявления аллергии отмечены в 37,7% ($n = 20$) случаев.

Таблица. Особенности спектра сенсibilизации к грибковым аллергенам больных атопическим дерматитом и псориазом, % (n/N)

Table. Features of the spectrum of sensitization to fungal allergens in patients with atopic dermatitis and psoriasis, % (n/N)

Наименование аллергена Allergens	I группа Group I	II группа Group II	p
<i>Candida albicans</i>	38,8%±6,9 (19/49)	48,3%±9,4 (14/29)	$p = 0,4$
<i>Cladosporium herbarum</i>	47,4%±8,1 (18/38)	62,5%±12,5 (10/16)	$p = 0,3$
<i>Penicillium notatum</i>	33,3%±7,5 (13/39)	33,3%±11,4 (6/18)	$p = 1,0$
<i>Alternaria alternata</i>	52,2%±10,6 (12/23)	52,9%±12,5 (9/17)	$p = 0,9$
<i>Aspergillus fumigatus</i>	35,7%±13,3 (5/14)	55,0%±11,4 (11/20)	$p = 0,3$
Пищевые дрожжи Nutritional yeast	58,5%±6,8 (31/53)	50,9%±6,9 (27/53)	$p = 0,4$

Примечание. % (n) — относительное и абсолютное количество сенсibilизированных больных, N — количество тестированных больных. При $P = 100$ средняя ошибка относительной величины рассчитана по методике Л.С. Каминского.

Note. % (n) — relative and absolute number of sensitized patients, N denotes the number of patients tested. At $P = 100$, the average error of the relative value was calculated by the method proposed by L.S. Kaminsky.

При сборе аллергологического анамнеза установлено, что в группе больных псориазом в 49,1% ($n = 26$) случаев выявлено наличие аллергических реакций на пищевые продукты и медикаменты, инсектная аллергия, эпизоды крапивницы. Наследственный аллергологический анамнез (аллергические реакции и/или заболевания у близких родственников) был отягощен в 26,4% ($n = 14$) случаев. У 7,5% ($n = 4$) больных отмечены сезонные проявления аллергии. Наличие псориаза у близких родственников определено в 37,7% ($n = 20$) случаев. При оценке сезонной метеозависимости больных ПС выявлено, что частота зимнего типа заболевания (обострение в осенне-зимний период) выявлена в 28,3% ($n = 15$) случаев, в то время как летний тип ПС (обострение в весенне-летний период) отмечен в 7,5% ($n = 4$) случаев. Особенностью летнего типа ПС являлось наличие сопутствующей патологии — поллиноза (сезонного аллергического риноконъюнктивита).

Длительность заболевания атопическим дерматитом составила $4,0 \pm 1,3$ лет, средний возраст дебюта патологии — $28,0 \pm 1,9$ лет. Атопический дерматит характеризовался наличием эритематозных очагов, сухости кожи, эксфолиаций, крупнопластинчатого шелушения. Больные АД в 96,2% ($n = 51$) случаев предъявляли жалобы на кожный зуд. Поражения кожи были ограниченными в 86,8% случаев ($n = 46$), распространенными — в 13,2% ($n = 7$) случаев. При исследовании частоты обострений кожного процесса в группе больных АД на основании данных анамнеза в 81,1% ($n = 43$) случаев установлено непрерывно-рецидивирующее течение заболевания, обострение 1–2 раза в год — в 18,9% ($n = 10$).

Длительность заболевания псориазом составила $9,0 \pm 1,6$ лет, дебют патологии отмечен в возрасте $24,0 \pm 2,1$ лет. Больные ПС в 47,2% ($n = 25$) случаев предъявляли жалобы на боли в суставах. Средний возраст дебюта суставного синдрома при ПС составил $34,0 \pm 3,6$ года. Патологический процесс на коже при ПС был представлен монорформной сыпью, состоящей из плоских папул различных размеров, имеющих тенденцию к слиянию в крупные бляшки розово-красного цвета, характеризующиеся эпидермальной гиперпролиферацией и aberrантной дифференциацией эпидермиса. Кожный зуд, являющийся маркером интоксикационного синдрома, выявлен у 79,2% ($n = 42$) больных ПС. Непрерывно-рецидивирующее течение ПС установлено в 77,4% ($n = 41$) случаев, обострение 1–2 раза в год — в 13,2% ($n = 7$), а обострение 1–2 раза в месяц — в 9,4% ($n = 5$) случаев.

При изучении особенностей сенсibilизации к грибковым аллергенам определено, что в группе больных атопическим дерматитом

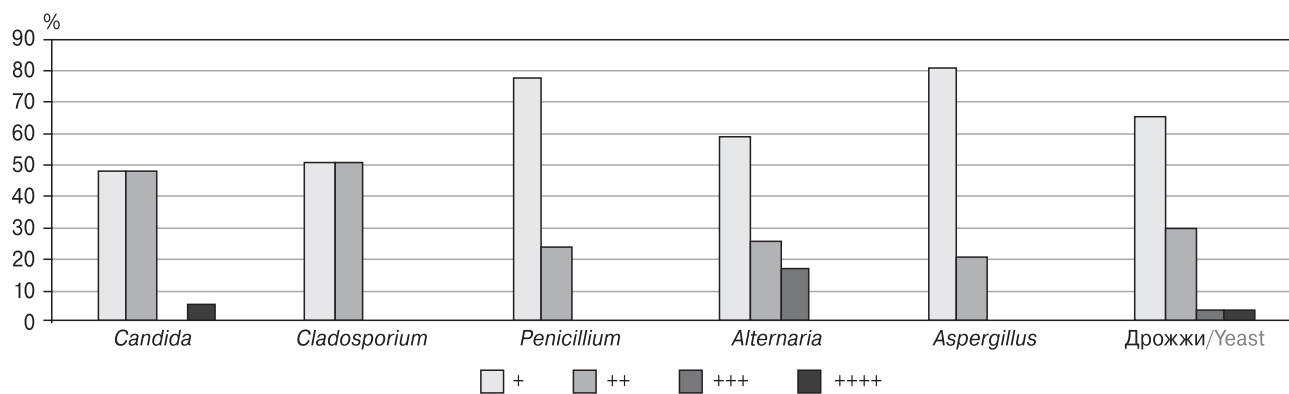


Рисунок 1. Степень сенсibilизации к грибковым аллергенам больных atopическим дерматитом

Figure 1. Degree of sensitization to fungal allergens in patients with atopic dermatitis

наиболее высокая частота встречаемости сенсibilизации к пищевым дрожжам, а также грибкам рода *Alternaria alternata* и *Cladosporium herbarum*. В группе больных псориазом наиболее высокая частота встречаемости сенсibilизации к грибкам рода *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus* и *Alternaria alternata* (табл.).

При изучении межгрупповых различий определено, что частота встречаемости сенсibilизации к грибкам рода *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum* была выше в группе больных ПС в сравнении с группой АтД, однако статистической значимости показатели не достигли (табл.). Можно предположить, что развитию сенсibilизации к грибковым аллергенам у больных atopическим дерматитом и псориазом способствует применение топических глюкокортикостероидов [28]. Высокая частота встречаемости грибковой аллергии при псориазе может быть связана с более частым и длительным наружным применением кортикостероидов, причем в связи с непрерывно-рецидивирующим течением кожного процесса больные используют препараты (крема и мази) преимущественно высокой степени активности [30].

При изучении степени сенсibilизации к грибковым аллергенам больных обеих групп выявлена преимущественно слабоположительная реакция на prick-тестирование (рис. 1, 2).

В группе больных АтД положительная реакция на prick-test (++) выявлена чаще к *Candida albicans* и *Cladosporium herbarum* в сравнении с другими разновидностями грибковых аллергенов (рис. 1). Резко положительная реакция (+++) чаще наблюдалась по отношению к грибкам *Alternaria alternata*. Гиперергическая реакция (++++) у больных АтД отмечалась к *Candida albicans* и дрожжам.

В группе больных ПС положительная реакция на prick-test (++) выявлена чаще к *Penicillium notatum* в сравнении с другими разновидностями грибковых аллергенов (рис. 2). Резко положительная реакция (+++) была определена к *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, дрожжам. Гиперергическая реакция (++++) у больных ПС выявлена лишь к пищевым дрожжам (рис. 2).

Изучена концентрация аллерген-специфических IgE к смеси грибковых аллергенов в группах больных atopическим дерматитом и псориазом. Установлено, что положительный результат верификации IgE к смеси плесневых

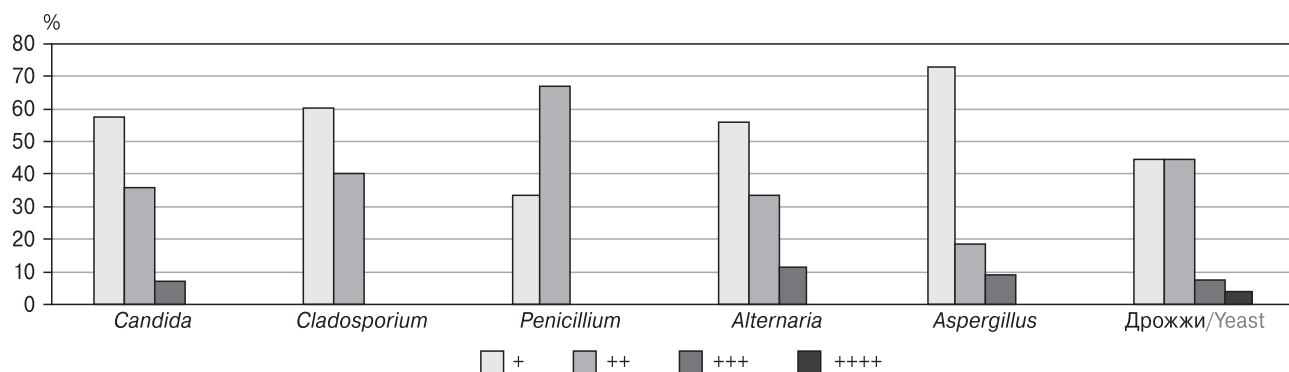


Рисунок 2. Степень сенсibilизации к грибковым аллергенам больных псориазом

Figure 2. Degree of sensitization to fungal allergens in patients with psoriasis

аллергенов был получен в группе больных АтД в $15,0\% \pm 8,2$ ($n = 3/20$) случаев, в группе больных ПС — в $5,3\% \pm 3,6$ ($n = 2/38$) случаев, $p_{1,2} = 0,2$.

Обсуждение

Таким образом, нами проведен сравнительный анализ спектра сенсибилизации к грибковым аллергенам больных атопическим дерматитом и псориазом и установлены определенные особенности в зависимости от нозологии.

Частота встречаемости грибковой сенсибилизации при аллергических заболеваниях варьирует от 2 до 60% в зависимости от вида возбудителя и географических особенностей региона [16, 17]. Особое внимание практикующих врачей следует обратить на гиподиагностику грибковой аллергии, поскольку грибковые аллергены часто не учитываются в качестве этиологического фактора. Выявление сенсибилизации к грибкам осложняется фактом отсутствия стандартизированных грибковых экстрактов для проведения диагностики *in vitro* и *in vivo* [10].

Известно, что грибковые аллергены могут поступать в организм как ингаляционным путем и с пищевыми продуктами, так и контактным путем через кожный покров [17]. К наиболее значимым грибковым аллергенам относятся споры, мицелий, а также ферменты, токсины, компоненты клеточной стенки, перекрестно-реагирующие белки [10]. Высокой сенсибилизирующей способностью обладают грибки рода *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum* [23]. Вклад различных грибковых аллергенов в развитие аллергических заболеваний не одинаков и зависит от вида возбудителя. Так, грибки рода *Alternaria* и *Cladosporium*, находящиеся в большом количестве в окружающей среде, связаны в основном с развитием респираторной аллергии (бронхиальной астмы и ринита), в то время как грибки рода *Penicillium*, *Aspergillus* и *Candida*, обитающие преимущественно в помещениях, могут вызывать аллергические повреждения кожи [10]. Есть данные о повышении частоты встречаемости сенсибилизации к грибкам рода *Candida* и *Malassezia* при АтД, для которых была доказана перекрестная реактивность [17]. *Candida albicans* — один из наиболее распространенных комменсальных дрожжевых грибов, который чаще связан с различными заболеваниями [12]. Следует отметить, что экзематозное воспаление кожи может быть вызвано как с IgE-, так и с не-IgE-опосредованными механизмами [16]. Изучение грибковой сенсибилизации показало, что помимо классических антигенпрезентирующих клеток (дендритных клеток), определенную роль в презентации антигена могут играть В-лимфоциты, особенно при его низкой концентрации и воспалении кожи [15,

16, 18]. Известно, что у части больных АтД сенсибилизация к дрожжевым антигенам вызывает аутореактивность к белкам человека в результате молекулярной мимикрии, что приводит к увеличению воспалительного процесса в коже [24]. Колонизация очагов поражения кожи грибками в областях с высокой плотностью сальных желез (например, голова, шея, верхняя часть груди и спина) также может осложнять клиническое течение АтД [17].

В литературе встречаются немногочисленные данные о частоте встречаемости грибковой сенсибилизации у больных АтД. Так, в одном исследовании частота встречаемости сенсибилизации к грибкам у больных АтД составила 30% вне зависимости от тяжести заболевания. При этом авторы исследования уделяют особое внимание корреляции сенсибилизации к грибкам с другими ингаляционными аллергенами, такими как микст пыльцы трав и деревьев [17]. В недавно проведенном исследовании установлено, что *Malassezia sympodialis* — липофильные дрожжи, колонизирующие кожу, — индуцирует IgE-опосредованную сенсибилизацию у больных АтД. Основной причиной такой специфической сенсибилизации может быть дефект кожного барьера, способствующий проникновению аллергенов с последующим развитием АтД [20].

При атопическом дерматите в процессе прогрессирования патологии у некоторых больных наблюдается сочетанное поражение кожи и респираторного тракта (дерматореспираторный синдром) [19]. В литературе есть данные о концентрации специфических IgE к *Alternaria alternata* у пациентов с дерматореспираторным синдромом (сочетание АтД и бронхиальной астмы) [17, 19]. Установлено, что *Alternaria alternata* — основной аэроаллерген у данной категории больных. Известно, что *Alternaria alternata* является одним из наиболее распространенных грибов, переносимых воздушно-капельным путем в помещении и на открытом воздухе, поэтому он может вызывать аллергическую реакцию у сенсибилизированных людей [10]. Следовательно, контроль роста *Alternaria alternata* в помещениях может играть важную роль в снижении аллергической реакции у восприимчивых людей.

В проведенном нами исследовании установлено, что в группе больных АтД наиболее значимыми грибковыми аллергенами являлись пищевые дрожжи, а также грибки рода *Alternaria alternata* и *Cladosporium herbarum*. Гиперергическая реакция на prick-тест (++++) в группе больных АтД отмечалась к грибкам рода *Candida albicans* и дрожжам. При изучении концентрации аллерген-специфических IgE к смеси грибковых аллергенов в группе больных АтД положительные реакции к изучаемым аллергенам выявлены в 15,0% случаев.

Подтверждением этиопатогенетической роли грибов при ПС являются данные о том, что очаги поражения кожи больных характеризуются измененным составом микробиома грибов в сравнении с контролем [22, 25, 26, 30]. В литературе, посвященной микробиому грибов при ПС, особое место отводится обсуждению повышения концентрации грибов рода *Candida* и *Malassezia* в псориазных очагах поражения кожи. Причем повышенная концентрация грибов рода *Malassezia* выявлена в псориазных бляшках на коже волосистой части головы [22]. Известно, что колонизация грибом рода *Candida* была выявлена как в очагах поражения кожи, так и в ротовой полости и ассоциирована с тяжелым клиническим течением ПС [25]. В литературе описаны примеры развития тяжелых форм ПС при локализации высыпаний в областях, колонизированных грибковой микрофлорой: межъягодичная и перианальная область, волосистая часть головы, что также является подтверждением участия микробиома грибов в развитии псориазного воспаления [8, 9]. В экспериментальных исследованиях доказано, что ответные реакции на грибки, колонизирующие кожу, могут вызвать псориазиформное воспаление тканей в результате воздействия Th17-лимфоцитов, продуцируемых ими цитокинов и внеклеточных ловушек нейтрофилов [22].

Данных относительно грибковой сенсибилизации у больных ПС в доступной литературе нет. В ранее проведенном нами исследовании установлено, что в группе больных псориазом сенсибилизация к грибкам рода *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Penicillium notatum* по результатам кожного prick-тестирования, отмечалась чаще, чем в группе больных АтД, однако статистической значимости показатели не достигли [2].

В проведенном нами исследовании обнаружена высокая частота встречаемости сенсибилизации к грибкам рода *Cladosporium* и *Aspergillus* в группе больных ПС, которая может быть связана с тем, что данные виды грибов являются комменсалами слизистой оболочки гастроинтестинального и респираторного трактов, а также кожи [23].

Сравнительный анализ частоты встречаемости сенсибилизации к грибкам рода *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum* между группами показал, что грибковая сенсибилизация встречается чаще в группе больных ПС, чем в группе больных АтД. Преобладание грибковой сенсибилизации при ПС может быть связано с длительным использованием топических кортикостероидов при лечении, а также с большей колонизацией грибковой микрофлорой очагов поражения кожи. Учитывая клиничес-

кое течение ПС с продолжительными периодами обострения и кратковременными нестойкими ремиссиями, наличие сенсибилизации к грибкам может быть следствием чрескожной сенсибилизации аллергенов грибов через очаги повреждения кожи [30].

В литературе есть данные о повышении концентрации специфических IgE в сыворотке крови больных ПС к аллергенам пыльцы березы, тимофеевки, ржи, картофеля и моркови. Данных относительно концентрации специфических IgE к грибковым аллергенам у больных ПС нет [32].

При изучении концентрации аллерген-специфических IgE к смеси грибковых аллергенов в группе больных псориазом получены противоречащие результатам кожного prick-тестирования данные: так, положительный результат верификации IgE выявлен лишь в 5,3% случаев, в то время как положительные реакции на prick-test определены в 33–62% случаев. Сенсибилизация к смеси плесневых аллергенов согласно концентрации аллерген-специфических IgE была чаще отмечена в группе больных АтД, чем в группе больных ПС. Несмотря на то что АтД является классическим примером атопии, IgE-опосредованные механизмы определены лишь в 15% случаев. Вероятнее всего, развитие АтД и ПС связано с участием другого класса реагинов (IgG4) или с вовлечением иных иммунопатологических механизмов запуска аллергии (по классификации Джелла и Кумбса).

Известно, что при употреблении в пищу продуктов, содержащих споры грибов, или продуктов на основе дрожжевого брожения у сенсибилизированных к грибкам пациентов может отмечаться обострение аллергического заболевания. Следовательно, обнаружение сенсибилизации к пищевым дрожжам в обеих группах больных создает предпосылки к назначению элиминационной диеты как при АтД, так и при ПС [1].

Заключение

Атопический дерматит и псориаз являются наиболее распространенными воспалительными заболеваниями кожи со сложным этиопатогенезом, в котором грибковая аллергия играет важную роль. Проведенное нами исследование может ориентировать клиницистов в плане персонализированных подходов к диагностике и лечению данных патологий с включением специфического аллергологического обследования больных АтД и ПС.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы/References

1. Барило А.А., Смирнова С.В. Роль алиментарных факторов и пищевой аллергии в развитии псориаза // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 1. С. 60–68. [Barilo A.A., Smirnova S.V. The role of nutritional factors and food allergy in the development of psoriasis. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*, 2020, vol. 89, no. 1, pp. 60–68. (In Russ.)] doi: 10.24411/0042-8833-2020-10002
2. Барило А.А., Смирнова С.В. Сравнительный анализ спектра сенсибилизации к пищевым, пыльцевым и грибковым аллергенам пациентов с псориазом и atopическим дерматитом // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 5. С. 28–34. [Barilo A.A., Smirnova S.V. The comparative analysis of the spectrum of sensitization to food, pollen and fungal allergens in patients with atopic dermatitis and psoriasis. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*, 2020, vol. 89, no. 5, pp. 28–34. (In Russ.)] doi: 10.24411/0042-8833-2020-10063
3. Барило А.А., Смирнова С.В., Смольникова М.В. Иммунологические показатели больных псориазом в различные возрастные периоды // Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20), № 4. С. 680–681. [Barilo A.A., Smirnova S.V., Smolnikova M.V. Immunological indicators of patients with psoriasis in different age groups. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, vol. 11 (20), no. 4, pp. 680–681. (In Russ.)]
4. Барило А.А., Смирнова С.В., Смольникова М.В. Показатели иммунитета у больных псориазом с артритом в зависимости от возраста // Медицинская иммунология. 2019. Т. 21, № 1. С. 69–76. [Barilo A.A., Smirnova S.V., Smolnikova M.V. Age-dependent indexes of immunity in the patients with psoriatic arthritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical immunology (Russia)*, 2019, vol. 21, no. 1, pp. 69–76. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-69-76
5. Гончаров А.А., Долгих О.В. Иммунологические и генетические особенности патогенетической ассоциации псориаза и дисбиоза толстого кишечника // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 2. С. 237–248. [Goncharov A.A., Dolgikh O.V. Immunological and genetic features of pathogenetic association between psoriasis and colonic dysbiosis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 2, pp. 237–248. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-1AG-1277
6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва: МедиаСфера, 2003. 312 с. [Rebrova O.Y. Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA application package. *Moscow: MediaSfera*, 2003. 312 p. (In Russ.)]
7. Сеницын Б.Ф. К обнаружению псориазического антигена как некоторого аналога инфекционных прионных белков // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 3–4. С. 589–594. [Sinityn B.F. Detecting a psoriatic antigen analogous to infectious prion proteins. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, vol. 9, no. 3–4, pp. 589–594. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-3-4-589-594
8. Смирнова С.В., Барило А.А., Смольникова М.В. Прогностическое значение клинических и анамнестических маркеров псориазического артрита // Клиническая дерматология и венерология. 2016. Т. 15, № 1. С. 23–27. [Smirnova S.V., Barilo A.A., Smolnikova M.V. The prognostic value of clinical and anamnestic markers of psoriatic arthritis. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology*, 2016, vol. 15, no. 1, pp. 23–27. (In Russ.)]
9. Смирнова С.В., Смольникова М.В., Барило А.А. Клинико-анамнестические критерии прогрессирования псориаза // Клиническая дерматология и венерология. 2016. Т. 15, № 2. С. 9–15. [Smirnova S.V., Smolnikova M.V., Barilo A.A. Clinical and anamnestic criteria of the progression of psoriasis. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology*, 2016, vol. 15, no. 2, pp. 9–15. (In Russ.)] doi: 10.17116/klinderma20161529-15
10. Царев С.В. Аллергия к грибам: особенности клинических проявлений и диагностики // Астма и аллергия. 2015. № 3. С. 3–7. [Tsarev S.V. Allergy to fungi: features of clinical manifestations and diagnostics. *Astma i allergiya = Asthma and Allergy*, 2015, no. 3, pp. 3–7. (In Russ.)]
11. Alexander H., Paller A.S., Traidl Hoffmann C., Beck L.A., De Benedetto A., Dhar S., Girolomoni G., Irvine A.D., Spuls P., Su J., Thyssen J.P., Vestergaard C., Werfel T., Wollenberg A., Deleuran M., Flohr C. The role of bacterial skin infections in atopic dermatitis: expert statement and review from the International Eczema Council Skin Infection Group. *Br. J. Dermatol.*, 2020, vol. 182, no. 6, pp. 1331–1342. doi: 10.1111/bjd.18643
12. Ayala-Fontánez N., Soler D.C., McCormick T.S. Current knowledge on psoriasis and autoimmune diseases. *Psoriasis (Auckl)*, 2016, vol. 6, pp. 7–32. doi: 10.2147/PTT.S64950
13. Bacher P., Hohnstein T., Beerbaum E., Röcker M., Blango M.G., Kaufmann S., Röhmel J., Eschenhagen P., Grehn C., Seidel K., Rickerts V., Lozza L., Stervbo U., Nienen M., Babel N., Milleck J., Assenmacher M., Cornely O.A., Ziegler M., Wisplinghoff H., Heine G., Worm M., Siegmund B., Maul J., Creutz P., Tabeling C., Ruwwe-Glösenkamp C., Sander L.E., Knosalla C., Brunke S., Hube B., Kniemeyer O., Brakhage A.A., Schwarz C., Scheffold A. Human anti-fungal Th17 immunity and pathology rely on cross-reactivity against *Candida albicans*. *Cell*, 2019, vol. 176, pp. 1340–1355. doi: 10.1016/j.cell.2019.01.041
14. Bedair A.A., Darwazeh A.M., Al-Aboosi M.M. Oral *Candida* colonization and candidiasis in patients with psoriasis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 2012, vol. 114, pp. 610–615. doi: 10.1016/j.oooo.2012.05.01
15. Campana R., Dzoro S., Mittermann I., Fedenko E., Elisyutina O., Khaitov M., Karaulov A., Valenta R. Molecular aspects of allergens in atopic dermatitis. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2017, vol. 17, no. 4, pp. 269–277. doi: 10.1097/ACI.0000000000000378
16. Campana R., Moritz K., Marth K., Neubauer A., Huber H., Henning R., Blatt K., Hoermann G., Brodie T.M., Kaider A., Valent P., Sallusto F., Wöhrl S., Valenta R. Frequent occurrence of T cell-mediated late reactions revealed by atopy patch testing with hypoallergenic rBet v 1 fragments. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2016, vol. 137, no. 2, pp. 601–609. doi: 10.4103/ijd.IJD_493_17
17. Celakovská J., Josef B., Ettl K., Vaneckova J., Ettlrova K., Jan K. Sensitization to fungi in atopic dermatitis patients 14 year and older — association with other atopic diseases and parameters. *Indian J. Dermatol.*, 2018, vol. 63, no. 5, pp. 391–398. doi: 10.4103/ijd.IJD_493_17
18. Egbuniwe I.U., Karagiannis S.N., Nestle F.O., Lacy K.E. Revisiting the role of B cells in skin immune surveillance. *Trends Immunol.*, 2015, vol. 36, no. 2, pp. 102–111. doi: 10.1016/j.it.2014.12.006
19. Fairs A., Agbetile J., Hargadon B., Bourne M., Monteiro W.R., Brightling C.E., Bradding P., Green R.H., Mutalithas K., Desai D., Pavord I.D., Wardlaw A.J., Pashley C.H. IgE sensitization to *Aspergillus fumigatus* is associated with reduced lung function in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2010, vol. 182, no. 11, pp. 1362–1368. doi: 10.1164/ajrccm.155.6.9196093

20. Gaitanis G., Magiatis P., Hantschke M., Bassukas I.D., Velegaki A. The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2012, vol. 25, no. 1, pp. 106–141. doi: 10.1128/CMR.00021-11
21. Gomez-Moyano E., Crespo-Erchiga V., Martínez-Pilar L., Godoy Diaz D., Martínez-García S., Navarro L.M., Casano V.A. Do *Malassezia* species play a role in exacerbation of scalp psoriasis? *J. Mycol. Med.*, 2014, vol. 24, no. 2, pp. 87–92. doi: 10.1016/j.mycmed.2013.10.007
22. Hurabielle C., Link V.M., Bouladoux N., Han S., Merrill E.D., Lightfoot Y.L., Seto N., Bleck C.K.E., Smelkinson M., Harrison O.J., Linehan J.L., Tamoutounour S., Lionakis M.S., Kaplan M.J., Nakajima S., Belkaid Y. Immunity to commensal skin fungi promotes psoriasiform skin inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2020, vol. 117, no. 28, pp. 16465–16474. doi: 10.1073/pnas.2003022117
23. Limon J.J., Skalski J.H., Underhill D.M. Commensal fungi in health and disease. *Cell Host Microbe*, 2018, vol. 22, no. 2, pp. 156–165. doi: 10.1016/j.chom.2017.07.002
24. Morita E., Hide M., Yoneya Y., Kannbe M., Tanaka A., Yamamoto S. An assessment of the role of *Candida albicans* antigen in atopic dermatitis. *J. Dermatol.*, 1999, vol. 26, pp. 282–287. doi: 10.1111/j.1346-8138.1999.tb03473.x
25. Ovcina-Kurtović N., Kasumagić-Halilović E., Helppikangas H., Begić J. Prevalence of *Candida* species in patients with psoriasis. *Acta Dermatovenerol. Croat.*, 2016, vol. 24, pp. 209–213.
26. Pietrzak A., Grywalska E., Socha M., Roliński J., Franciszkiewicz-Pietrzak K., Rudnicka L., Rudzki M., Krasowska D. Prevalence and possible role of *Candida* species in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *Mediators Inflamm.*, 2018: 9602362. doi: 10.1155/2018/9602362
27. Salava A., Lauerma A. Role of the skin microbiome in atopic dermatitis. *Clin. Transl. Allergy*, 2014, vol. 4: 33. doi: 10.1186/2045-7022-4-33
28. Sanchez D.A., Nosanchuk J.D., Friedman A.J. The skin microbiome: is there a role in the pathogenesis of atopic dermatitis and psoriasis? *J. Drugs Dermatol.*, 2015, vol. 14, pp. 127–130.
29. Seite S., Bieber T. Barrier function and microbiotic dysbiosis in atopic dermatitis. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, 2015, vol. 8, pp. 479–483. doi: 10.2147/CCID.S91521
30. Takemoto A., Cho O., Morohoshi Y., Sugita T., Muto M. Molecular characterization of the skin fungal microbiome in patients with psoriasis. *J. Dermatol.*, 2015, vol. 42, pp. 166–170. doi: 10.1111/1346-8138.12739
31. Tomi N.S., Kränke B., Aberer E. Staphylococcal toxins in patients with psoriasis, atopic dermatitis, and erythroderma, and in healthy control subjects. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2005, vol. 53, pp. 67–72. doi: 10.1016/j.jaad.2005.02.034
32. Weryńska-Kalemba M., Filipowska-Grońska A., Kalemba M., Krajewska A., Grzanka A., Bożek A., Jarzab J. Analysis of selected allergic reactions among psoriatic patients. *Postepy Dermatol. Alergol.*, 2016, vol. 33, no. 1, pp. 18–22. doi: 10.5114/pdia.2014.44015
33. Williams M.R., Gallo R.L. The role of the skin microbiome in atopic dermatitis. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2015, vol. 15, no. 11: 65. doi: 10.1007/s11882-015-0567-4
34. Zielinski C.E., Mele F., Aschenbrenner D., Jarrossay D., Ronchi F., Gattorno M., Monticelli S., Lanzavecchia A., Sallusto F. Pathogen-induced human TH17 cells produce IFN- γ or IL-10 and are regulated by IL-1 β . *Nature*, 2012, vol. 26, no. 484 (7395), pp. 514–518. doi: 10.1038/nature10957

Авторы:

Барило А.А., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии НИИ медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, г. Красноярск, Россия;

Смирнова С.В., д.м.н., профессор, руководитель научного направления НИИ медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, г. Красноярск, Россия.

Authors:

Barilo A.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Federal Research Center Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Smirnova S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Research Direction Manager, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Federal Research Center Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 26.03.2021
Принята к печати 03.01.2022

Received 26.03.2021
Accepted 03.01.2022

АНАЛИЗ ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИННОГО ШТАММА ВИРУСА ГРИППА А(Н1N1)pdm09 В ПАНДЕМИЮ И ПОСТПАНДЕМИЧЕСКИЙ ПЕРИОД (2009–2014 гг.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА

В.С. Вакин¹, И.В. Амосова¹, Е.М. Войцеховская¹, Т.А. Тимошичева¹, А.А. Васильева¹, М.Г. Позднякова¹, Л.В. Лялина², В.А. Марченко¹, И.Ю. Никоноров¹, М.П. Грудинин¹

¹ ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

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

Резюме. В настоящее время оценка иммуногенных свойств вирусов гриппа, входящих в состав гриппозных вакцин, проводится с использованием показателей серопротекции, сероконверсии и кратности приростов антител после вакцинации. При этом существенные различия в иммуногенности вакцин, связанные с динамикой формирования высоких титров антител, ответственных за длительную защиту привитых, остаются за рамками внимания исследователей. Вирусы гриппа, подобные А(Н1N1)pdm09, вызвавшему пандемию 2009–2010 гг., продолжают циркуляцию в человеческой популяции, поэтому оценка иммуногенной активности вакцинных вирусов, подготовленных в пандемический период, представляет интерес с точки зрения методологии подготовки пандемических вакцин для их применения в различных группах населения (взрослые, дети, пожилые люди). Анализ иммуногенности гриппозных вакцин, применяемых в период пандемии свиного гриппа 2009–2010 гг. и постпандемический период до 2014 г., был выполнен графическим методом (иммунографики). Для каждой группы привитых (в зависимости от использованной вакцины) вычисляли кратность нарастания антител (КрН) и строили графики иммуногенности. По оси абсцисс (x) откладывали значения КрН антител, имеющихся в данной группе вакцинированных, по оси ординат (y) — количество сывороток (в %) с данной кратностью нарастания антител от 1 до максимально достигнутых в группе привитых. Предлагаемая методика оценки иммуногенности позволяет строить графики независимо от уровня антител в сыворотках волонтеров. Использование метода иммунографиков позволило выявить ряд особенностей формирования иммунного ответа к пандемическому вирусу А(Н1N1)pdm09, таких как отсутствие иммунного ответа у значительного количества взрослых волонтеров (25–27%) и детей младшего возраста (60–70%) на введение моновакцины. Причинами такой иммунной реакции могут быть как недостаточная доза вирусного антигена в вакцине, так и супрессия иммунного ответа, которую оказывал вирус гриппа А(Н1N1)pdm09. Изучение иммуногенных свойств сезонных гриппозных вакцин в период с 2010 по 2014 г., содержащих антиген вируса гриппа А(Н1N1)pdm09, выявило разнообразие в формировании гуморального иммунитета у вакцинированных от кратковременного с невысокой кратностью нарастания антител у детей до формирования высоких титров антител у по-

Адрес для переписки:

Тимошичева Татьяна Александровна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова 15/17,
ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России.
Тел.: 8 (812) 499-15-84. E-mail: tatianatim@mail.ru

Contacts:

Tatyana A. Timoshicheva
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Prof. Popova str., 15/17,
Smorodintsev Research Institute of Influenza.
Phone: +7 (812) 499-15-84. E-mail: tatianatim@mail.ru

Для цитирования:

Вакин В.С., Амосова И.В., Войцеховская Е.М., Тимошичева Т.А., Васильева А.А., Позднякова М.Г., Лялина Л.В., Марченко В.А., Никоноров И.Ю., Грудинин М.П. Анализ иммуногенности вакцинного штамма вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 в пандемию и постпандемический период (2009–2014 гг.) с использованием графического метода // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 158–164. doi: 10.15789/2220-7619-IAO-1693

Citation:

Vakin V.S., Amosova I.V., Voitsekhovskaya E.M., Timoshicheva T.A., Vasileva A.A., Pozdnyakova M.G., Lyalina L.V., Marchenko V.A., Nikonorov I.Yu., Grudinin M.P. Immunograph-based analysis of the influenza a(H1N1)pdm09 vaccine strain immunogenicity in the pandemic and post-pandemic period (2009–2014) // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 158–164. doi: 10.15789/2220-7619-IAO-1693

жилых людей. Практическим результатом иммунографического анализа гриппозных моновакцин, в частности полученных на основе вируса гриппа А(H1N1)pdm09, могут быть рекомендации по увеличению антигенной нагрузки в начале пандемического цикла и/или купирование супрессивных свойств вакцинных вирусов в составе детских вакцин, так как увеличение дозы вируса в вакцине для детей не всегда выполнимо.

Ключевые слова: вирус гриппа А, H1N1pdm, пандемия, вакцина, иммуногенность, иммунографик.

IMMUNOGRAPH-BASED ANALYSIS OF THE INFLUENZA A(H1N1)pdm09 VACCINE STRAIN IMMUNOGENICITY IN THE PANDEMIC AND POST-PANDEMIC PERIOD (2009–2014)

Vakin V.S.^a, Amosova I.V.^a, Voitsekhovskaya E.M.^a, Timoshicheva T.A.^a, Vasileva A.A.^a, Pozdnyakova M.G.^a, Lyalina L.V.^b, Marchenko V.A.^a, Nikonorov I.Yu.^a, Grudinina M.P.^a

^a Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

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

Abstract. Currently, the assessment of the immunogenic properties of influenza viruses as a part of influenza vaccines is carried out by using seroprotection, seroconversion as well as the rate of increases in post-vaccination antibodies. At the same time, significant differences in the immunogenicity of vaccines related to dynamic formation of high antibody titers responsible for long-term protection of the vaccinated, are neglected. Influenza viruses such as A(H1N1)pdm09 that caused 2009–2010 pandemic continue to circulate in the population, therefore, the assessment of the immunogenic activity of vaccine viruses prepared during the pandemic period is interesting in for the methodology to prepare pandemic vaccines to be used in various groups (adults, children, elderly people). Analyzing immunogenicity of influenza vaccines used during the 2009–2010 swine influenza pandemic and the post-pandemic period up to the year 2014 was carried out by applying the graphical method for assessing immunogenicity (immunographs) measured as follows: for each group of vaccinated subjects (depending on the vaccine used), an increased rate in antibody level was calculated and the graphs of immunogenicity were plotted. An increased rate of serum antibodies magnitude from vaccinated subjects and the number of sera (in %) with a given fold increase rate in antibody level from 1 to the maximum magnitude were plotted on the x- and y-axis, respectively. The proposed method for assessing immunogenicity allows to plot immunogenicity graphs regardless of the serum antibodies level found in volunteers. The assessment described above revealed a several features for developing immune response to the pandemic virus A(H1N1)pdm09 such as the lack of immune response in a substantial number of adult volunteers (25–27%) and young children (60–70%) after monovaccine administration. The reason for such immune response can be both an insufficient dose of vaccine-containing viral antigen and suppressed immune response caused by the influenza A(H1N1)pdm09. A study on the immunogenic properties for seasonal influenza vaccines containing the influenza A(H1N1)pdm09 virus antigen in the years 2010–2014 revealed a variety in emerging humoral immunity ranging from a short-term, low-frequency increase in antibodies from vaccinated children to the formation of high antibody titers in elderly. Practically, immunographic analysis of influenza vaccines particularly those derived from the influenza A(H1N1)pdm09 virus, may result in proposing recommendations to increase an antigenic load at the beginning of a pandemic cycle and/or block the suppressive properties of vaccine-contained viruses in pediatric vaccines, because escalating virus dose in the vaccine may not always be achievable in this case.

Key words: influenza A virus, H1N1pdm, pandemic, vaccine, immunogenicity, immunograph.

Введение

В течение многих лет высокая иммуногенная активность вакцинных штаммов вируса гриппа наряду с антигенной специфичностью служит основным критерием их пригодности для вакцинопрофилактики гриппозной инфекции у людей [4].

В настоящее время оценка иммуногенных свойств гриппозных вирусов проводится по тестовым таблицам, включающим данные по серопротекции, сероконверсии и кратности приростов антител после вакцинации [7]. При этом существенные различия в иммуногенности вакцин, связанные с динамикой формирования высоких титров антител, ответственных за длительную защиту привитых, остаются за рамками внимания исследователей.

Ранее для решения данного вопроса нами был применен графический метод оценки иммуногенной активности вирусов [2] в дополнение к тестовым таблицам, что позволило выявить динамику формирования общего пула антител у вакцинированных людей.

Использование динамического показателя кратности нарастания антител (КрН) сделало возможным определение количественных и качественных показателей эффективности вакцинации, в том числе с учетом группы серологически положительных привитых волонтеров.

При сравнении различных типов вакцин (субъединичных и сплит-вакцин) [3] были обнаружены существенные различия между ними по форме графиков и количественным параметрам образования антител.

В настоящее время вирусы гриппа, подобные А(Н1N1)pdm09, вызвавшему пандемию 2009–2010 гг., продолжают циркуляцию в человеческой популяции, поэтому оценка иммуногенной активности вакцинных вирусов, подготовленных в пандемический период, представляет интерес с точки зрения методологии подготовки пандемических вакцин для их применения в различных группах населения (взрослые, дети, пожилые люди).

Результаты анализа иммунографиков могут быть важны для понимания процессов формирования гуморального иммунитета к пандемическому вирусу А(Н1N1)pdm09 и штаммам вирусов гриппа других серотипов с учетом динамики кратности нарастания титров (КрН) антител, их величин и сроков существования защитных титров.

Цель исследования — анализ иммуногенной активности вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 в составе вакцин в различных возрастных группах в период пандемии и постпандемический период с применением метода графической оценки иммуногенности.

Материалы и методы

Вирусы. Сравнивались иммуногенные свойства вакцинного штамма вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 (штамм А/Калифорния/07/09) в составе моно- и поливалентных вакцин в период пандемии 2009–2010 гг. и постпандемический период до 2014 г.

Вакцины:

- вакцина 1 — вакцина гриппозная моновалентная инактивированная субъединичная адьювантная (культуральная). В иммунизирующей дозе содержится 5 мкг гемагглютинаина пандемического вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 и 500 мкг иммуноадьюванта «Полиоксидоний»;
- вакцина 2 — вакцина гриппозная моновалентная инактивированная субъединичная адьювантная (эмбриональная). В иммунизирующей дозе содержится 5 мкг гемагглютинаина пандемического вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 и 500 мкг иммуноадьюванта «Полиоксидоний»;
- вакцина 3 — смесь высокоочищенных поверхностных и внутренних антигенов вирусов гриппа А (субтипов (Н1N1)pdm09, Н3N2) и В. В иммунизирующей дозе содержится по 15 мкг гемагглютинаина каждого вируса;
- вакцина 4 — расщепленная (сплит) инактивированная вакцина с антигенной нагрузкой 15 мкг гемагглютинаина каждого вируса;
- вакцина 5 — гриппозная инактивированная вакцина, содержащая по 5 мкг поверхностных гликопротеинов вирусов

гриппа А (субтипов (Н1N1)pdm09 и Н3N2), 11 мкг гемагглютинаина вируса гриппа В и 500 мкг адьюванта «Совидон»;

- вакцина 6 — субъединичная адьювантная вакцина, содержащая по 5 мкг гемагглютининов вирусов гриппа А (субтипов (Н1N1)pdm09 и Н3N2), 11 мкг гемагглютинаина вируса гриппа В и 500 мкг иммуноадьюванта «Полиоксидоний».

Все вакцины были зарегистрированы на территории РФ и допущены к обращению на территории РФ.

Методы формирования таблиц и графиков.

Для исследования были использованы парные сыворотки крови, взятые у волонтеров до и на 28 день после вакцинации. Методика оценки иммуногенности позволяет строить графики независимо от уровня антител в сыворотках волонтеров, однако привлечение к эксперименту волонтеров с исходными титрами выше 1:5 слабо меняло форму графиков. Сравнение вакцин проводили по группам серонегативных привитых с исходными титрами антител 1:5.

Метод построения иммунографиков подробно изложен в работе Вакина В.С. и соавт. [2]. Для каждой группы привитых (в зависимости от использованной вакцины) вычисляли кратность нарастания антител (КрН) и строили графики иммуногенности. По оси абсцисс (х) откладывали значения КрН антител, имеющих в данной группе вакцинированных. На оси ординат (у) — количество сывороток (в %) с данной кратностью нарастания антител от 1 до максимально достигнутых в группе привитых.

Таблицы для построения графиков иммуногенности были составлены по данным первичных протоколов испытаний иммуногенной активности соответствующих гриппозных вакцин.

Вторым важным показателем иммунного статуса является средняя кратность прироста антител (СКрП). Графики иммуногенности, построенные на показателях СКрП, в данном исследовании оказались менее информативными, поэтому в статье приводятся только численные значения СКрП.

Определение иммуногенной активности вакцинного штамма вируса гриппа А(Н1N1)pdm09. Иммуногенную активность вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 в составе моно- и поливалентных вакцин оценивали в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием гриппозных диагностикумов [1].

Методы статистики. В работе применяли методы статистической оценки результатов, относящиеся к расчетам средних величин и достоверности отдельных показателей [6]. Последнее достигалось применением t-критерия Стьюдента как для отдельных по-

казателей, так и для оценки достоверности различий между альтернативными признаками. В этом случае использовали формулу:

$$t = \frac{(p - q)}{\sqrt{((m1)^2 - (m2)^2)}}$$

где $m1$ и $m2$ — средние ошибки, p и q — альтернативные признаки, t — критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Показатели иммуногенности гриппозных вакцин 1 и 2 для взрослых представлены в табл. 1 и на рис. 1.

Анализ графиков иммуногенности показал, что иммунный ответ у привитых волонтеров при использовании вакцин 1 и 2 формировался одинаково, при этом значительная часть привитых (25 и 27% соответственно) не ответила на иммунизацию вирусом гриппа A(H1N1)pdm09.

Форма иммунографиков необычна и представляет ломаные линии с различной амплитудой и острыми вершинами в точках максимальных значений титров антител. По величине достигнутых титров антител и протяженности графиков иммуногенность вакцины 1 в четыре раза превосходит иммуногенность вакцины 2, что может свидетельствовать о более выраженных иммуногенных свойствах вакцины 1. На это указывает и более высокое значение СКрП (почти в 3 раза) при использовании вакцины 1 в серонегативной группе привитых, однако статистически эти различия не достоверны. Защитная роль вакцины 2 реализуется при титрах антител с КрН от 2 до 32 раз, тогда как при использовании вакцины 1 — при титрах антител с КрН до 128 раз.

В связи с тем, что расширение групп исследования за рамки серонегативных привитых (титр антител 1:10–1:320) приводило к незначительному увеличению КрН антител в зоне 1:16 и слабо влияло на форму графиков иммуногенности моновакцин, результаты по данным группам привитых волонтеров не приводятся.

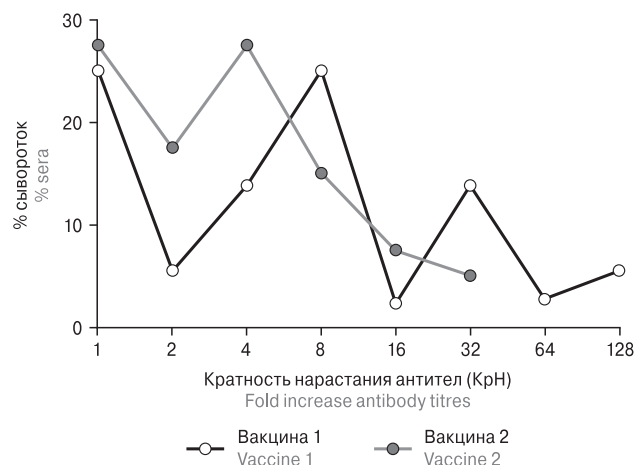


Рисунок 1. Графики иммуногенности вакцин 1 и 2
Figure 1. Immunogenicity graphs for vaccines 1 and 2

Для графического отображения иммуногенности у детей 3–6 лет, привитых расщепленными вакцинами 3 или 4, составлены табл. 2 и 3 и построены соответствующие графики иммуногенности (рис. 2).

Анализ иммунографиков показал, что иммуногенная активность вируса A(H1N1)pdm09 в вакцинах 3 и 4 выражена весьма слабо. Большинство привитых детей, 67 и 74% соответственно, не ответили на вакцинацию. Подобное явление наблюдали и при использовании моновакцин у взрослых волонтеров, где 25–27% привитых оставались интактными к пандемическому вирусу.

Механизм слабой реакции иммунной системы детей на вирус гриппа A(H1N1)pdm09 не совсем ясен. Слабая реакция иммунной системы детей может быть связана с недостаточной дозой вводимого вируса. На это указывают Neuzil K.M. и соавт. [8], которые, следуя рекомендациям CDC и собственным наблюдениям, ввели дополнительную вторую дозу вируса гриппа для усиления протективного эффекта вакцины.

В наших исследованиях [3] полное исчезновение не ответивших на иммунизацию «молча-

Таблица 1. Показатели кратности нарастания антител и средней кратности прироста антител у привитых вакцинами 1 и 2

Table 1. Magnitude of antibody titre fold increase and mean antibody fold rise for vaccinated subjects after using vaccines 1 and 2

Вакцина Vaccine	Исходный титр антител Baseline antibody titre	Число привитых Number of volunteers	% сывороток с различной кратностью нарастания антител % of sera with different antibody titre fold increase								Кратность прироста антител Antibody titres fold increase	P	t
			1	2	4	8	16	32	64	128			
Вакцина 1 Vaccine 1	1:5	36	25,0	5,5	13,8	25,0	2,3	13,8	2,7	5,5	17,6	≤ 0,1%	1,6
Вакцина 2 Vaccine 2	1:5	40	27,5	17,5	27,5	15,0	7,5	5,0	–	–	5,7		

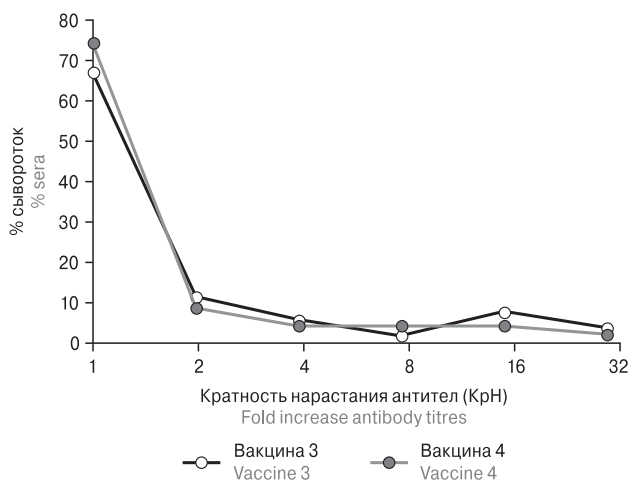


Рисунок 2. Графики иммуногенности вакцин 3 и 4
Figure 2. Immunogenicity graphs for vaccines 3 and 4

ших» волонтеров достигалось при увеличении количества вируса в вакцине до 15 мкг на дозу, что в 3 раза превышало первоначальную иммунизирующую дозировку вируса. В то же время нельзя отрицать возможное действие нового вируса А(Н1N1)рdm09 как фактора, тормозящего иммунный ответ у детей. Принимая во внимание, что антигенная нагрузка в изученных вакцинах составляет 15 мкг на дозу, низкая иммуногенность вакцин, скорее всего, является следствием иммуносупрессивной активности вируса гриппа А(Н1N1)рdm09, которая приводит к снижению синтеза интерлейкинов (IL-1, IL-2) и уменьшению экспрессии рецепторов к этим медиаторам [5].

Показатели иммуногенной активности гриппозных вакцин 5 и 6 изучены для двух возрастных групп (дети 13–17 лет и взрослые стар-

Таблица 2. Показатели кратности нарастания антител и средней кратности прироста антител у детей 3–6 лет, привитых вакциной 3

Table 2. Magnitude of antibody titre fold increase and mean antibody fold rise for 3–6 years old children after using vaccine 3

№ группы Group No.	Исходный титр антител Baseline antibody titre	Число привитых Number of volunteers	% сывороток с различной кратностью нарастания антител % of sera with different antibody titre fold increase						Кратность прироста антител Antibody titre fold increase	log ₂ кратности прироста антител log ₂ of antibody titre fold increase
			1	2	4	8	16	32		
1	1:5	18	21,2	–	–	1,9	7,7	3,8	8,1	3,0
2	1:10	4	3,8	1,9	–	1,9	–	–	3,0	1,6
3	1:20	6	–	7,7	3,8	–	–	–	2,6	1,4
4	1:40	10	19,2	–	–	–	–	–	1,0	0,0
5	1:80	6	7,7	1,9	1,9	–	–	–	1,6	0,0
6	1:160	6	11,5	–	–	–	–	–	1,9	0,0
7	1:320	1	1,9	–	–	–	–	–	1,9	0,0
8	1:640	1	1,9	–	–	–	–	–	1,9	0,0
Всего/Total	52	67,2	11,5	5,7	1,9	7,7	3,8	–	–	

Таблица 3. Показатели кратности нарастания антител и средней кратности прироста антител у детей 3–6 лет, привитых вакциной 4

Table 3. Magnitude of fold antibody titre fold increase and mean antibody fold rise for 3–6 years old children after using vaccine 4

№ группы Group No.	Исходный титр антител Baseline antibody titre	Число привитых Number of volunteers	% сывороток с различной кратностью нарастания антител % of sera with different antibody titre fold increase						Кратность прироста антител Antibody titre fold increase	log ₂ кратности прироста антител log ₂ of antibody titre fold increase
			1	2	4	8	16	32		
1	1:5	20	34,0	2,2	2,2	–	4,4	2,2	4,3	2,1
2	1:10	9	15,9	–	–	4,4	–	–	2,5	1,3
3	1:20	8	11,4	4,4	2,2	–	–	–	1,6	0,0
4	1:40	2	4,4	–	–	–	–	–	1,0	0,0
5	1:80	2	2,2	2,2	–	–	–	–	1,5	0,0
6	1:160	2	4,4	–	–	–	–	–	1,0	0,0
7	1:320	1	2,2	–	–	–	–	–	1,0	0,0
Всего/Total	44	74,5	8,8	4,4	4,4	4,4	2,2	–	–	

ше 60 лет). Особенности иммуногенеза в этих группах представлены в табл. 4 и на рис. 3.

Иммуногенность вакцин 5 и 6 для детей 13–17 лет составила более 90%, что значительно превосходит почти нулевые показатели иммуногенности вакцин для детей 6 лет. Около 50% сывороток детей, иммунизированных вакциной 5, имели достаточно высокую кратность нарастания антител КрН — 4–8 раз, но в узком диапазоне от 2 до 16 раз по приростам антител. Подобная динамика формирования пула антител предполагает быстрый ответ на прививку без формирования или при формировании незначительного числа клеток памяти, необходимых для дальнейшего развития иммунного процесса, на что и указывает вид графика.

При использовании вакцины 6 у детей 13–17 лет быстрое увеличение титров антител наблюдали у 47% вакцинированных от общего числа детей, активно ответивших на вакцинацию. Показатели КрН выросли в 16–32 раза, при этом форма графика принимает вид трапеции, где границы верхнего основания составляют 15–17% сывороток с КрН от 8 до 32 раз. Таким образом, использование вакцины 6 не только приводит к формированию «быстрых антител», но и запускает более сложные иммунные процессы.

При анализе иммуногенности вакцины 5, предназначенной для людей старше 60 лет, показано постепенное двухволновое развитие процессов иммуногенеза с достаточно высоким уровнем КрН до 128 раз. При этом наблюдается почти равномерное (15–17%) распределение числа сывороток для каждого значения КрН. Повидимому, в данном случае имеет место классический иммунный процесс с включением клеток памяти на последнем этапе иммуногенеза.

Заключение

Таким образом, анализируя графики формирования гуморального иммунитета к вирусу гриппа А(H1N1)pdm09 в составе моновакцин, можно

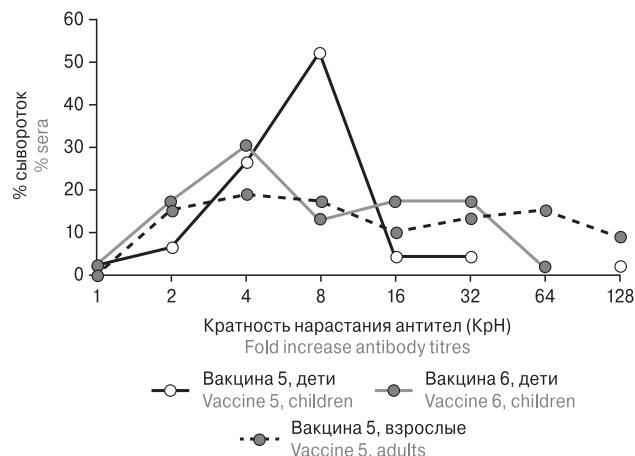


Рисунок 3. Графики иммуногенности вакцин 5 и 6
Figure 3. Immunogenicity graphs for vaccines 5 and 6

предположить, что несовершенство иммунного ответа у части волонтеров может быть связано либо с недостаточной антигенной нагрузкой в вакцине, либо с супрессивным действием вируса на систему иммунитета. Последнее особенно выражено у детей младшего возраста. В то же время графики иммуногенности поливалентных вакцин демонстрируют динамику антителообразования, которая позволяет судить о количественных и качественных сторонах иммунного ответа применяемых вакцин и их защитной роли.

Наблюдение за процессом иммуногенеза по графикам иммуногенности позволяет делать выводы относительно защитной роли изучаемой вакцины. Можно предположить, что вакцина, вызывающая формирование антител в сыворотках волонтеров с КрН на уровне 4–8 раз, быстро утрачивает свою защитную роль в связи с естественным разрушением антител. И наоборот, вакцина, вызывающая формирование антител в сыворотках волонтеров с КрН в более широком диапазоне (4–128), обеспечивает полноценный иммуногенез с активацией клеток памяти и предполагает длительное протективное действие вакцины у привитых людей.

Таблица 4. Показатели кратности нарастания антител и средней кратности прироста антител у детей 13–17 лет и взрослых старше 60 лет, привитых вакцинами 5 и 6

Table 4. Magnitude of antibody titre fold increase and mean antibody fold rise for 13–17 years old children and adults over 60 after using vaccines 5 and 6

Вакцина Vaccine	Исходный титр антител Baseline antibody titre	Число привитых Number of volunteers	% сывороток с различной кратностью нарастания антител % of sera with different antibody titre fold increase								Кратность прироста антител Antibody titre fold increase
			1	2	4	8	16	32	64	128	
Вакцина 5, дети Vaccine 5, children	1:5	45	2,2	6,6	26,6	52,3	4,4	4,4	–	2,2	10,5
Вакцина 6, дети Vaccine 6, children	1:5	46	2,4	17,4	30,4	13	17,4	17,4	2,1	–	12,4
Вакцина 5, взрослые Vaccine 5, adults	1:5	90	–	15,2	19,1	17,4	10,1	13,4	15,3	9,1	13,6

Список литературы/References

1. Амосова И.В., Тимошичева Т.А. Лабораторная дифференциальная диагностика гриппа и ОРВИ // Современная лабораторная диагностика. 2018. № 1 (24). С. 22–23. [Amosova I.V., Timoshicheva T.A. Laboratory differential diagnosis of influenza and ARVI. *Sovremennaya laboratornaya diagnostika = Modern Laboratory Diagnostics*, 2018, no. 1 (24), pp. 22–23. (In Russ.)]
2. Вакин В.С., Войцеховская Е.М., Васильева А.А., Кузнецова Е.В., Коншина О.С., Лонская Н.И. Графическое отображение иммуногенности вакцинных штаммов вирусов гриппа // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014. Т. 78, № 5. С. 99–110. [Vakin V.S., Voytsehovskaya E.M., Vasileva A.A., Kuznetsova E.V., Konshina O.S., Lonskaya N.I. Graphical display of the differences in immunogenicity of viruses – components of contemporary influenza vaccines. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2014, vol. 78, no. 5, pp. 99–110. (In Russ.)]
3. Вакин В.С., Коншина О.С., Войцеховская Е.М., Кузнецова Е.В., Майорова В.Г., Васильева А.А., Никоноров И.Ю. Иммуногенность современных вакцинных вирусов гриппа серотипа А(Н1N1)рdм09 по данным графического анализа // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017. Т. 96, № 5. С. 28–32. [Vakin V.S., Konshina O.S., Wojciechowska E.M., Kuznetsova E.V., Mayorova V.G., Vasilyeva A.A., Nikonorov I.Yu. Immunogenicity of modern vaccine viruses of influenza A(H1N1)pdm09 according to graphical analysis. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2017, vol. 96, no. 5, pp. 28–32. (In Russ.)]
4. Вакцины и вакцинация: национальное руководство. Краткое издание / Под ред. В.В. Зверева, Р.М. Хаитова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 640 с. [Vaccines and vaccination: national leadership. Concise edition. Ed. by V.V. Zverev, R.M. Khaitov. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 640 p. (In Russ.)]
5. Теория и практика вакцинологии / Под ред. Н.В. Медуницына, А.Н. Миронова, А.А. Мовсесянца. Москва: ООО «Ремедиум», 2015. 496 с. [Theory and practice of vaccinology. Ed. by N.V. Medunitsyn, A.N. Mironov, A.A. Movsesiants. Moscow: Remedium, 2015. 416 p. (In Russ.)]
6. Шляхов Э.Н. Практическая эпидемиология. 4-е изд., дополн. Кишинев: Штиинца, 1986. 525 с. [Shlyakhov E.N. Practical epidemiology. *Kishinev: Shtiintsa*, 1986. 525 p. (In Russ.)]
7. ЕМЕА. Note for Guidance on harmonization of requirements for influenza vaccines. EMEA, 1997. 19 p.
8. Neuzil K.M., Jackson L.A., Nelson J., Klimov A., Cox N., Bridges C.B., Dunn J., DeStefano F., Shay D. Immunogenicity and reactogenicity of 1 versus 2 doses of trivalent inactivated influenza vaccine in vaccine-naïve 5-8-year-old children. *J. Infect. Dis.*, 2006, vol. 194, no. 8, pp. 1032–1039. doi: 10.1086/507309

Авторы:

Вакин В.С., к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории клеточных культур ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Амосова И.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Войцеховская Е.М., младший научный сотрудник лаборатории клеточных культур ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Тимошичева Т.А., к.б.н., научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Васильева А.А., научный сотрудник лаборатории биотехнологии диагностических препаратов ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Позднякова М.Г., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Лялина Л.В., д.м.н., зав. лабораторией эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Марченко В.А., лаборант-исследователь лаборатории системной вирусологии ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Никоноров И.Ю., к.м.н., начальник отдела по защите государственной тайны ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Грудинин М.П., к.б.н., зав. отделом биотехнологии ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Vakin V.S., PhD (Medicine), Junior Researcher, Laboratory of Cell Culture, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Amosova I.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Biotechnology of Diagnostic Products, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Voitsekhovskaya E.M., Junior Researcher, Laboratory of Cell Culture, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Timoshicheva T.A., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Diagnostic Reagent Biotechnology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Vasileva A.A., Researcher, Laboratory of Diagnostic Reagent Biotechnology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Pozdnyakova M.G., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Testing New Means of Protection against Viral Infections, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Lyalina L.V., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Epidemiology of Infectious and Non-Infectious Diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Marchenko V.A., Investigator (Biologist), Laboratory of Systemic Virology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;
Nikonorov I.Yu., PhD (Medicine), Head of the Department for Protection of State Secrets, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg Russian Federation;
Grudin M.P., PhD (Biology), Head of the Department of Biotechnology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 06.03.2021
 Отправлена на доработку 31.10.2021
 Принята к печати 07.11.2021

Received 06.03.2021
 Revision received 31.10.2021
 Accepted 07.11.2021

ИЗМЕНЕНИЯ ВАСКУЛОЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ПРИ *HELICOBACTER PYLORI*-АССОЦИИРОВАННЫХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Л.В. Матвеева, Р.Х. Капкаева, А.Н. Чудайкин, А.А. Солдатова, Л.М. Мосина, Ю.А. Костина, Г.А. Солодовникова

ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия

Резюме. Инфицированность населения *Helicobacter (H.) pylori* является общемировой проблемой. Колонизация *H. pylori* слизистой оболочки гастродуоденальной зоны может инициировать развитие ряда заболеваний с гипер- или гипоплазией эпителиоцитов слизистой оболочки, секретирующих васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF). Цель работы — определение сыровоточного уровня, диагностической и прогностической ценности VEGF при заболеваниях гастродуоденальной зоны. *Материалы и методы.* После получения информированного согласия обследовано 180 пациентов с обострением хронического гастрита, язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки и 30 здоровых добровольцев. Больные были разделены на группы в зависимости от степени контаминации слизистой оболочки *H. pylori*. У обследованных лиц при эзофагогастродуоденоскопии проводили забор материала при прицельной биопсии для микроскопического и гистологического исследований. Кровь на иммунологическое обследование забиралась в утренние часы натощак из локтевой вены в объеме 5 мл, сыворотка выделялась центрифугированием. Иммуноферментным методом в сыворотке крови обследуемых определяли уровень VEGF, пепсиногенов, титр суммарных антител к цитотоксин-ассоциированному протеину *H. pylori*. Отдаленный прогноз анализировали в течение 2 лет. Полученные данные были статистически обработаны. *Результаты.* У больных выявлено превышение сыровоточного уровня VEGF по сравнению со здоровыми добровольцами. При язвенной болезни желудка, ассоциированной с *H. pylori*, в 80% случаев определено превышение дискриминационного уровня VEGF. У больных выявлены прямые взаимосвязи сыровоточного уровня VEGF и степени, стадии гастрита, степени обсемененности слизистой оболочки *H. pylori*, сыровоточного уровня пепсиногенов. При регрессионном анализе установлено, что у больных с заболеваниями гастродуоденальной зоны при сыровоточном уровне VEGF, равном или большем 231 пг/мл, в 60% случаев верно прогнозируется нарастание атрофии слизистой оболочки. При количестве VEGF ≥ 373 пг/мл в 91,5% случаев развивается ульцерация желудочного эпителия, при ≥ 396 пг/мл в 89% — ульцерация кишечного эпителия. Вероятность гастродуоденального кровотечения при сыровоточном уровне VEGF 408 пг/мл и более верно предсказывается в 96% случаев. *Заключение.* У более 54% больных с *H. pylori*-ассоциированными хроническим гастритом, язвенной

Адрес для переписки:

Матвеева Любовь Васильевна
430032, Россия, Республика Мордовия, г. Саранск,
ул. Ульянова, 26а, ФГБОУ ВО Национальный исследовательский
Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева.
Тел.: 8 (8342) 35-25-16. Факс: 8 (8342) 32-19-83.
E-mail: MatveevaLjubov1@mail.ru

Contacts:

Ljubov V. Matveeva
430032, Russian Federation, Republic of Mordovia, Saransk,
Ulyanov str., 26a, National Research Mordovia State University.
Phone: +7 (8342) 35-25-16. Fax: +7 (8342) 32-19-83.
E-mail: MatveevaLjubov1@mail.ru

Для цитирования:

Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Чудайкин А.Н., Солдатова А.А., Мосина Л.М., Костина Ю.А., Солодовникова Г.А. Изменения васкулоэндотелиального фактора роста при *Helicobacter pylori*-ассоциированных гастродуоденальных заболеваниях // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 165–171. doi: 10.15789/2220-7619-CIV-1654

Citation:

Matveeva L.V., Kapkaeva R.H., Chudaikin A.N., Soldatova A.A., Mosina L.M., Kostina Yu. A., Solodovnikova G.A. Changes in vascular endothelial growth factor level in *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal diseases // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 165–171. doi: 10.15789/2220-7619-CIV-1654

болезнью количество VEGF достоверно превышает значения у здоровых добровольцев и дискриминационный уровень, отражает морфофункциональное состояние желудка, двенадцатиперстной кишки. Определение сывороточного уровня VEGF при заболеваниях гастродуоденальной зоны можно рекомендовать для прогнозирования развития атрофии, ulcerации желудочного, кишечного эпителия, гастродуоденального кровотечения.

Ключевые слова: васкулоэндотелиальный фактор роста, *Helicobacter pylori*, пепсиноген, хронический гастрит, язвенная болезнь желудка, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, корреляция, прогноз.

CHANGES IN VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR LEVEL IN *HELICOBACTER PYLORI*-ASSOCIATED GASTRODUODENAL DISEASES

Matveeva L.V., Kapkaeva R.H., Chudaikin A.N., Soldatova A.A., Mosina L.M., Kostina Yu.A., Solodovnikova G.A.

National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation

Abstract. A populational infection with *Helicobacter (H.) pylori* poses a global problem. Mucosal colonization of *H. pylori* in the gastroduodenal area can initiate development multiple diseases with hyper- or hypoplasia of mucosal epithelial cells secreting vascular endothelial growth factor (VEGF). The aim of the study was to assess VEGF serum level, its diagnostic and prognostic value in diseases affecting the gastroduodenal area. **Materials and methods.** 180 patients with exacerbated chronic gastritis, gastric ulcer, duodenal ulcer as well as 30 healthy volunteers were examined after providing an informed consent. Patients were divided into groups depending on the degree of mucous contamination with *H. pylori*. In the subjects examined during esophagogastroduodenoscopy, a biological material was collected during targeted biopsy for microscopic and histological studies. Blood samples for immunological examination were obtained in the morning on an empty stomach from the ulnar vein in the volume of 5 ml, and the serum was isolated by centrifugation. The level of VEGF, pepsinogens, and titer of total antibodies against the *H. pylori* cytotoxin-associated protein were determined in the blood serum from the subjects by using the enzyme immunoassay method. The long-term prognosis was analyzed for up to 2 years. The data obtained were processed statistically. **Results.** Patients were found to have excessive serum VEGF levels in healthy volunteers. For gastric ulcer associated with *H. pylori*, 80% of cases had increased discriminatory VEGF level. In patients, direct relationships between the serum VEGF level and degree, stage of gastritis, the degree of contamination with *H. pylori*, the serum pepsinogens level were uncovered. Regression analysis found that patients with diseases targeting gastroduodenal area had serum VEGF level equal to or greater than 231 pg/ml in 60% of cases that correctly predicted an increase in mucosal atrophy. If the amount of VEGF ≥ 373 pg/ml in 91.5% of cases, then ulceration of gastric epithelium developed, whereas for ≥ 396 pg/ml level it was observed in 89% cases with ulceration of the intestinal epithelium. The probability of gastroduodenal bleeding at a serum VEGF level of 408 pg/ml or higher was predicted correctly in 96% of cases. **Conclusion.** More than 54% of patients with *H. pylori*-associated chronic gastritis, peptic ulcer disease had level of VEGF significantly exceeding magnitude found in healthy volunteers and the discriminatory level reflects the morphofunctional state of the stomach and duodenum. Assessing serum VEGF level in gastroduodenal diseases can be recommended for predicting development of atrophy, ulceration of the gastric and intestinal epithelium, and gastroduodenal bleeding.

Key words: vascular endothelial growth factor, *Helicobacter pylori*, pepsinogen, chronic gastritis, gastric ulcer, duodenal ulcer, correlation, prognosis.

Введение

Для инфекции *Helicobacter (H.) pylori* характерно повсеместное распространение с поражением более 50% населения стран мира, при этом отмечаются территориальные различия заболеваемости, определяемые социально-экономическим уровнем, возрастные особенности [8, 10]. Колонизация *H. pylori* слизистой оболочки (СО) гастродуоденальной зоны (ГДЗ) может приводить к развитию хронического гастрита (ХГ), язвенной болезни (ЯБ), кишечной метаплазии, дисплазии, рака желудка (РЖ) [2, 9].

Среди факторов патогенности *H. pylori* большое значение имеет цитотоксин-ассоциированный протеин (CagA). Установлено [11], что

инфицированность CagA⁺-штаммами *H. pylori* увеличивает риск развития язвенного дефекта желудка.

Имеются сведения [4] о связи инфекции *H. pylori* с предраковыми состояниями – атрофическим гастритом, аденоматозными полипами, РЖ кишечного типа, сопровождающейся гиперплазией клеток-продуцентов васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF).

Ранее предложено исследовать сывороточный уровень VEGF для иммунодиагностики атрофического гастрита [5], РЖ [6]. Интерес для практического здравоохранения имеет изучение значимости VEGF при диагностике заболеваний ГДЗ, прогнозировании осложнений ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки.

Цель работы — установление сывороточного уровня, диагностической и прогностической ценности VEGF при заболеваниях ГДЗ.

Материалы и методы

В группы сравнения вошли 180 больных с обострением ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки, пациентов Мордовской республиканской клинической больницы, Рузаевской межрайонной больницы, поликлиники № 4 г. Саранска, в контрольную группу — 30 клинически здоровых добровольцев. Все обследуемые дали письменное согласие на участие в работе и соответствовали критериям включения. В исследование не включали больных с сопутствующими заболеваниями инфекционной и неинфекционной этиологии, с множественными язвами, с предшествующей антибактериальной и/или антисекреторной терапией. Дизайн исследования был позитивно оценен внутривузовой экспертной комиссией.

Распределение больных по группам сравнения осуществляли по локализации, характеру патологического процесса, степени контаминации СО *H. pylori*. 30 *H. pylori*-положительных больных с обострением ХГ вошли в I группу, 30 пациентов с обострением ХГ, не ассоциированного с *H. pylori*, — во II группу. III группу составили 30 *H. pylori*-положительных больных с обострением ЯБ желудка, IV группу — 30 больных с обострением ЯБ желудка, не ассоциированной с *H. pylori*. Пациентов с обострением ЯБ двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H. pylori* ($n = 30$) и не ассоциированной с *H. pylori* ($n = 30$), распределили в V и VI группы соответственно. Когорты обследованных лиц были сопоставимы по половому и возрастному признакам.

У обследованных лиц при эзофагогастродуоденоскопии проводили прицельную биопсию.

Забор 5 мл крови для иммунологического исследования осуществляли в утренние часы натощак из кубитальной вены в пробирку без консервантов с последующим отделением сыворотки при центрифугировании.

Инфекцию *H. pylori* диагностировали инвазивными (Хелпил-тест (ООО «АМА», Россия), цитологическое исследование мазков-отпечатков биоптатов с оценкой степени контаминации *H. pylori*, гистологическое исследование биоптатов) и неинвазивными (Хелик-тест (ООО «АМА», Россия), иммуноферментный анализ (ИФА) титра суммарных антител (САТ) к CagA *H. pylori*) методами. Гистологическое исследование биоптатов осуществляли в лаборатории Мордовского республиканского онкологического диспансера.

При ИФА у обследованных определяли сывороточные уровни VEGF, пепсиногена (PG)-1, PG-2, САТ к CagA *H. pylori*, используя тест-

системы ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). По рекомендации производителя диагностических наборов считали нормальным количество VEGF в диапазоне 10–246 пг/мл, PG-1 — 50–130 мкг/л, PG-2 — 4–22 мкг/л, титр САТ к CagA *H. pylori* оценивали как сомнительный ($< 1:5$), слабоположительный (1:5), положительный (1:10–1:20), сильноположительный (1:40–1:80) либо как отрицательный результат.

Для статистической обработки результатов исследования применяли методы непараметрического анализа программы Microsoft Excel 7.0, данные отражали в виде медианы, первого и третьего квартилей (Me [Q₁; Q₃]). Для сравнения показателей использовали критерий Манна–Уитни, коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s), межгрупповые различия считали значимыми при $p \leq 0,05$. Сила взаимосвязи показателей при $r_s < 0,19$ оценивалась как очень слабая, $r_s = 0,2–0,29$ — слабая, $r_s = 0,3–0,49$ — умеренная, $r_s = 0,5–0,69$ — средняя, $r_s = 0,7–1$ — сильная. С помощью программы MedCalc Version 18.11 вычисляли чувствительность (Se), специфичность (Sp) показателей, уравнения логистической регрессии, строили ROC-кривые с определением индекса согласованности модели по площади под ROC-кривыми (AUC), доверительного интервала (95% ДИ).

Для оценки отдаленного прогноза в течение 2 лет анализировали результаты эзофагогастродуоденоскопии, гистологического исследования биоптатов больных (по данным контактов с пациентами, их родственниками, амбулаторных карт).

Результаты

При гистологическом и цитологическом исследовании биоптатов здоровых добровольцев морфофункциональная сохранность СО желудка и двенадцатиперстной кишки подтверждалась отсутствием признаков воспалительной инфильтрации, атрофических, дис- и метапластических изменений, инфекции *H. pylori*. Результаты Хелик- и Хелпил-тестов были отрицательными.

У больных при верификации инфекции *H. pylori* значимых различий результатов инвазивных и неинвазивных методов исследования не наблюдалось. В I группе у 5 (16,7%) больных отмечалась слабая степень обсемененности СО *H. pylori*, у 12 (40%) — средняя, у 13 (43,3%) — высокая. В III и V группах слабая степень контаминации СО *H. pylori* наблюдалась у 4 (13,3%) и 9 (30%) больных, средняя степень — у 12 (40%) и 11 (36,7%) больных, высокая степень — у 14 (46,7%) и 10 (33,3%) больных соответственно. Во II, IV, VI группах хеликобактерии в биоптатах не обнаруживались.

Таблица 1. Сывороточный уровень васкулоэндотелиального фактора роста при гастродуоденальных заболеваниях

Table 1. Serum level for vascular endothelial growth factor in gastroduodenal diseases

VEGF, пг/мл VEGF, pg/ml	I группа Group I	II группа Group II	III группа Group III	IV группа Group IV	V группа Group V	VI группа Group VI
Me [Q ₁ ; Q ₃]	189 [168; 283,5] *	135 [120; 202,5] *#	306 [272; 459] *#§	229,5 [204; 344,2] *#§♦	261 [232; 391,5] *#§	162 [144; 243] *♦■●

Примечания. Значимые отличия от контрольной группы — *, I группы — #, II группы — §, III группы — ♦, IV группы — ■, V группы — ●.

Note. Significant differences from the control group — *, group I — #, group II — §, group III — ♦, group IV — ■, group V — ●.

Количество VEGF в сыворотке крови больных достоверно превышало значения у здоровых лиц (90 [80; 135] пг/мл) (табл. 1, рис.).

Сывороточный уровень VEGF в III группе (при обострении *H. pylori*-ассоциированной ЯБ желудка) был больше значений I, II, IV и VI групп — на 61,9, 126,7, 33,3 и 88,9% ($p < 0,05-0,01$). При обострении ЯБ двенадцатиперстной кишки у *H. pylori*-позитивных больных показатель превосходил данные I, II и VI групп — на 38,1, 93,3 и 61,1% ($p < 0,05-0,01$) соответственно.

Превышение дискриминационного уровня VEGF обнаружилось у 49 (54,4%) *H. pylori*-позитивных больных ХГ, ЯБ: у 9 (30%) больных в I, 24 (80%) в III, 16 (53,3%) в V группе; у 14 (23,3%) больных с *H. pylori*-неассоциированной ЯБ: у 9 (30%) в IV группе и 8 (26,7%) больных в VI группе.

У 8 (26,7%) здоровых добровольцев выявили САТ к *CagA H. pylori*, при этом в 16,7% случа-

ев наблюдался сомнительный результат, в 10% случаев — слабоположительный. Изменения показателя у больных с обострением ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки представлены в табл. 2.

Сывороточный уровень пепсиногенов у здоровых добровольцев находился в диапазоне нормальных значений — 74 [67; 80] мкг/л, тогда как у больных наблюдались изменения ферментопродукции. При сравнении с контрольной группой уровень PG-1 во II группе был меньше на 30,9% ($p < 0,05$). У больных III группы наблюдалось увеличение показателя (100 [88; 131] мкг/л, $p < 0,05-0,01$) относительно контрольной, I, II, V и VI групп больных. В IV группе показатель — 89 [80; 100] мкг/л — превышал ($p < 0,05-0,01$) значения контрольной, I, II и VI групп больных.

Сывороточный уровень PG-2 в сравнении со значениями здоровых добровольцев (13 [8; 16] мкг/л) у больных с обострением ХГ, ЯБ, неассоциированными с *H. pylori*, был меньше, а при *H. pylori*-ассоциированной ЯБ желудка больше на 57% ($p < 0,01$). В VI группе показатель был меньше, чем при обострении *H. pylori*-ассоциированных ХГ, ЯБ.

При корреляционном анализе у обследованных больных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки выявлены прямые взаимосвязи сывороточного уровня VEGF и показателей морфофункционального состояния слизистой желудка: степени гастрита ($r_s = +0,784$, $p < 0,0001$), стадии гастрита ($r_s = +0,344$, $p < 0,0001$), степени обсемененности СО *H. pylori* ($r_s = +0,571$, $p < 0,0001$), сывороточного уровня PG-1 ($r_s = +0,713$, $p < 0,0001$), PG-2 ($r_s = +0,757$, $p < 0,0001$).

Титр САТ к *CagA H. pylori* коррелировал со степенью гастрита ($r_s = +0,605$, $p < 0,0001$), степенью обсемененности СО *H. pylori* ($r_s = +0,892$, $p < 0,0001$), количеством PG-1 ($r_s = +0,349$, $p < 0,0001$), PG-2 ($r_s = +0,750$, $p < 0,0001$).

В общем массиве у обследованных больных ($n = 180$) выявлена взаимосвязь сывороточного уровня PG-1 и степени контаминации СО *H. pylori* — $r_s = +0,248$ ($p = 0,0008$), увеличивающаяся при *H. pylori*-ассоциированных ХГ, ЯБ — $r_s = +0,355$ ($p = 0,0006$). Корреляция PG-2 и степени обсемененности СО *H. pylori* была более значимой: $r_s = +0,691$ ($p < 0,0001$) при $n = 180$,

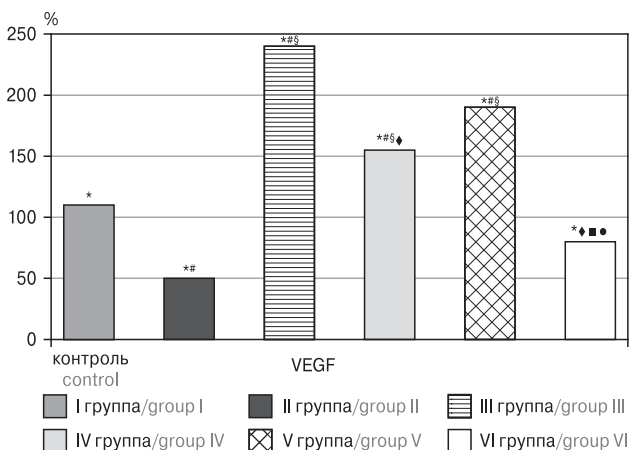


Рисунок. Изменения сывороточного уровня васкулоэндотелиального фактора роста при гастродуоденальных заболеваниях (% от контроля)

Figure. Changes in serum levels for vascular endothelial growth factor in gastroduodenal diseases (% of control)

Примечание. Отличия от контрольной группы — *, I группы — #, II группы — §, III группы — ♦, IV группы — ■, V группы — ●.

Note. Significant differences from the control group — *, group I — #, group II — §, group III — ♦, group IV — ■, group V — ●.

Таблица 2. Выявляемость и титры САТ к CagA *Helicobacter pylori* при гастродуоденальных заболеваниях (абс.; %)Table 2. Detection rate and serum titres for anti-*Helicobacter pylori* CagA SAB in gastroduodenal diseases (abs.; %)

Показатель Parameter	Титр САТ к CagA <i>H. pylori</i> Anti- <i>H. pylori</i> CagA SAB titer				
	отрицательный negative	< 1:5	1:5	1:10–1:20	1:40
I группа/group I	2; 6,7%	3; 10%	12; 40%	12; 40%	1; 3,3%
II группа/group II	25; 83,3%	5; 16,7%	0	0	0
III группа/group III	0	2; 6,7%	6; 20%	16; 46,7%	6; 20%
IV группа/group IV	24; 80%	6; 20%	0	0	0
V группа/group V	3; 10%	2; 6,7%	10; 33,3%	12; 40%	3; 10%
VI группа/group VI	25; 83,3%	5; 16,7%	0	0	0

при *H. pylori*-ассоциированных ХГ, ЯБ — $r_s = +0,796$ ($p < 0,0001$).

При построении ROC-кривой сопоставление сывороточного уровня VEGF и степени контаминации СО *H. pylori* определило Se VEGF 64,7%, Sp 63,3%, диагностический критерий > 214 пг/мл, AUC 0,627, 95% ДИ 0,536–0,713, $p = 0,0204$.

Среди клинико-морфологических исходов ХГ, ЯБ в течение 2 лет наблюдали нарастание атрофии желудочного эпителия, ulcerацию желудочного, кишечного эпителия, кровотечения из язвенного дефекта (табл. 3). Инфицированность *H. pylori* увеличивала частоту развития осложнений заболеваний ГДЗ в 1,2–2,8 раза.

У больных ХГ, ЯБ клинико-морфологические исходы заболеваний сопоставили с сывороточным уровнем VEGF. При регрессионном анализе данных полученные предиктивные модели имели очень хорошее (AUC $> 0,8$) и отличное (AUC $> 0,9$) качество, за исключением модели по прогнозированию атрофического процесса.

Для прогнозируемого признака «нарастание атрофии желудочного эпителия» было составлено следующее уравнение логистической регрессии:

$\text{logit}(p) = -1,5922 + 0,0069 \times \text{VEGF}$,
при этом χ^2 был равен 4,240, $p = 0,0395$, 59,82% верно предсказанных случаев, AUC 0,605, 95% ДИ 0,508–0,696.

Уравнение логистической регрессии для прогнозируемого признака «ulcerация желудочного эпителия» имело следующий вид:

$\text{logit}(p) = -8,4165 + 0,0226 \times \text{VEGF}$,
при этом $\chi^2 = 45,886$, $p < 0,0001$, 91,52% верно предсказанных случаев, AUC 0,898, 95% ДИ 0,842–0,940.

Для прогнозируемого признака «ulcerация кишечного эпителия» уравнение логистической регрессии имело следующий вид:

$\text{logit}(p) = -6,4468 + 0,0163 \times \text{VEGF}$,
при этом $\chi^2 = 37,280$, $p < 0,0001$, 89,09% верно предсказанных случаев, AUC 0,882, 95% ДИ 0,822–0,927.

Для прогнозируемого признака «кровотечение из язвенного дефекта» было составлено следующее уравнение логистической регрессии:

$\text{logit}(p) = -10,995 + 0,027 \times \text{VEGF}$,
при этом $\chi^2 = 39,532$, $p < 0,0001$, 95,83% верно предсказанных случаев, AUC 0,937, 95% ДИ 0,889–0,969.

Обсуждение

У больных *H. pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ желудка значимых межгрупповых различий по степени обсемененности СО *H. pylori* не наблюдалось. При обострении ЯБ двенадцатиперстной кишки количество больных со слабой степенью контаминации СО *H. pylori* было

Таблица 3. Клинико-морфологические исходы гастродуоденальных заболеваний (абс.; %)

Table 3. Clinical and morphological outcomes for gastroduodenal diseases (abs.; %)

Показатель Parameter	Нарастание стадии гастрита Increase at gastritis stage	Ульцерация эпителия Epithelium ulceration		Кровотечение Bleeding
		желудка stomach	кишечника intestines	
I группа/group I	18; 60%	6; 20%	8; 26,7%	0
II группа/group II	15; 50%	5; 16,7%	4; 13,3%	0
III группа/group III	19; 63,3%	12; 40%	5; 16,7%	8; 26,7%
IV группа/group IV	16; 53,3%	6; 20%	4; 13,3%	2; 6,7%
V группа/group V	15; 50%	3; 10%	10; 33,3%	9; 30%
VI группа/group VI	12; 40%	2; 6,7%	5; 16,7%	4; 13,3%

большим, с высокой степенью — меньшим при сравнении с заболеваниями желудка, что может быть обусловлено особенностями тропизма патогена.

Превышение сывороточного уровня VEGF здоровых добровольцев у обследованных больных отражает нарушения морфологической целостности СО желудка, двенадцатиперстной кишки и необходимость васкуляризации для репарации.

Превалирование сывороточного уровня VEGF при *H. pylori*-ассоциированных ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки над значениями больных *H. pylori*-неассоциированными ХГ, ЯБ может быть обусловлено мультифакториальным повреждающим действием высокопатогенных CagA⁺-штаммов инфекта [1, 3, 7, 8] и последующим нарастанием процесса репаративной регенерации. Некоторое несоответствие полученных нами результатов и имеющихся научных данных [4] о гипоплазии эпителиоцитов СО, секретирующих VEGF, при ЯБ желудка, вероятно, является следствием различий выраженности атрофического процесса СО у обследованных больных.

Превышение дискриминационного уровня VEGF в 80% случаев при ЯБ желудка, ассоциированной с *H. pylori*, определяет его высокую диагностическую ценность.

Повышенные титры САТ к CagA *H. pylori* при *H. pylori*-ассоциированных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки и отрицательный результат в 80% случаев при отсутствии инфекции *H. pylori* позволяют активно использовать данный показатель для серологической дифференциальной диагностики.

Выявленные прямые взаимосвязи сывороточного уровня VEGF и показателей морфофункционального состояния слизистой желудка у обследованных больных ХГ, ЯБ желудка, двенадцатиперстной кишки являются дополнительным свидетельством диагностической ценности показателя.

При регрессионном анализе данных установлено, что у больных с заболеваниями ГДЗ при сывороточном уровне VEGF, равном или большем 231 пг/мл в 60% случаев, верно прогнозируется нарастание атрофии СО, что вполне согласуется с полученным ранее результатом [7]. При количестве VEGF ≥ 373 пг/мл в 91,5% случаев развивается ульцерация желудочного эпителия, при ≥ 396 пг/мл в 89% — ульцерация кишечного эпителия. Вероятность гастродуоденального кровотечения при сывороточном уровне VEGF ≥ 408 пг/мл верно предсказывается в 96% случаев.

Заключение

У более 54% больных с *H. pylori*-ассоциированными ХГ, ЯБ количество VEGF достоверно превышает значения здоровых добровольцев и дискриминационный уровень, прямо взаимосвязано со степенью, стадией гастрита, степенью обсемененности СО *H. pylori*, сывороточными уровнями пепсиногенов и отражает морфофункциональное состояние желудка, двенадцатиперстной кишки.

Определение сывороточного уровня VEGF при заболеваниях ГДЗ можно рекомендовать для прогнозирования атрофических, эрозивно-язвенных изменений желудочного, кишечного эпителия, гастродуоденального кровотечения.

Список литературы/References

- Исаева Г.Ш., Валиева Р.И. Биологические свойства и вирулентность *Helicobacter pylori* // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2018. Т. 20. № 1. С. 14–23. [Isaeva G.Sh., Valieva R.I. Biological characteristics and virulence of *Helicobacter pylori*. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2018, vol. 20, no. 1, pp. 14–23. (In Russ.)]
- Кононов А.В., Мозговой С.И., Маркелова М.В., Шиманская А.Г. Морфогенез атрофии слизистой оболочки желудка как основа фенотипа хронического гастрита // Архив патологии. 2011. № 3. С. 26–31. [Kononov A.V., Mozgovoi S.I., Markelova M.V., Shimanskaya A.G. Morphogenesis of gastric mucosal atrophy as a basis of a phenotype of chronic gastritis. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology*, 2011, no. 3, pp. 26–31. (In Russ.)]
- Матвеева Л.В., Капкаева Р.Х., Чудайкин А.Н., Новикова Л.В. Значение факторов патогенности в инициации иммунного ответа при инфекции *Helicobacter pylori* // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2020. Т. 24, № 1. С. 105–114. [Matveeva L.V., Kapkaeva R.H., Chudajkin A.N., Novikova L.V. Significance of pathogenicity factors in initiation of immune response in *Helicobacter pylori* infection. *Vestnik Rossiiskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Meditsina = Bulletin of the Peoples' Friendship University of Russia. Journal of Medicine*, 2020, vol. 24, no. 1, pp. 105–114. (In Russ.)] doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-1-105-114
- Осадчук М.А., Балашов Д.В., Осадчук А.М., Кветной И.М. Роль эпителиоцитов, секретирующих сосудистый эндотелиальный фактор роста, панкреатический полипептид и глюкагон, в возникновении опухолевых заболеваний желудка // Клиническая медицина. 2012. Т. 90, № 2. С. 44–49. [Osadchuk M.A., Balashov D.V., Osadchuk A.M., Kvetnoy I.M. The role of epitheliocytes secreting vascular endothelial growth factor, pancreatic polypeptide and glucagon in the development of oncological diseases of the stomach. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*, 2012, vol. 90, no. 2, pp. 44–49. (In Russ.)]
- Патент № 2474824 Российская Федерация, МПК G01N33/53 (2006.01). Способ диагностики атрофического гастрита: № 2011146839/15; заявлено 2011.11.17; опубликовано 2013.02.10/Матвеева Л.В., Мосина Л.М. Патентообладатель: ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева. 5 с. [Patent

- No. 2474824 Russian Federation, Int. Cl. G01N33/53 (2006.01). Method for diagnosing atrophic gastritis. No. 2011146839/15; application: 2011.11.17; date of publication 2013.02.10 / Matveeva L.V., Mosina L.M. Proprietors: Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovanija "Mordovskij osudarstvennyj Universitet im. N.P. Ogareva". 5 p.]
6. Патент № 2580309 Российская Федерация, МПК G01N 33/50 (2006.01). Способ иммунодиагностики рака желудка: № 2014150804/15; заявлено 2014.12.15; опубликовано 2016.04.10 / Матвеева Л.В., Мосина Л.М., Стенина М.А., Солдатова А.А. Патентообладатель: ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева. 7 с. [Patent No. 2580309 Russian Federation, Int. Cl. G01N 33/50 (2006.01). Method of immunoassay of gastric cancer. No. 2014150804/15; application: 2014.12.15; date of publication 2016.04.10 / Matveeva L.V., Mosina L.M., Stenina M.A., Soldatova A.A. Proprietors: Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe obrazovatel'noe chrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovanija "Mordovskij osudarstvennyj Universitet im. N.P. Ogareva". 7 p.]
 7. Поздеев О.К., Поздеева А.О., Валеева Ю.В., Гуляев П.Е. Механизмы взаимодействия *Helicobacter pylori* с эпителием слизистой оболочки желудка. I. Факторы патогенности, способствующие успешной колонизации // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 3. С. 273–283. [Pozdeev O.K., Pozdeeva A.O., Valeeva Yu.V., Gulyaev P.E. Mechanisms of interaction of *Helicobacter pylori* with epithelium of gastric mucosa. I. Pathogenic factors promoting successful colonization. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 273–283. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-273-283
 8. Ansari S., Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* virulence factors exploiting gastric colonization and its pathogenicity. *Toxins*, 2019, vol. 11, pp. 677–703. doi: 10.3390/toxins11110677
 9. Ford A.C., Forman D., Hunt R.H., Yuan Y., Moayyedi P. *Helicobacter pylori* eradication therapy to prevent gastric cancer in healthy asymptomatic infected individuals: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Br. Med. J.*, 2014, vol. 348, pp. 3174–3178. doi: 10.1136/bmj.g3174
 10. Hirayama Y., Kawai T., Otaki J. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection with healthy subjects in Japan. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2014, vol. 29, no. 4, pp. 16–19. doi: 10.1111/jgh.12795
 11. Kim N. Immunological reactions on *H. pylori* infection (Book Chapter). In: *Helicobacter pylori*. Singapore: Springer Publishing, 2016, pp. 35–52.

Авторы:

Матвеева Л.В., д.м.н., доцент, профессор кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии медицинского института ФГБОУ ВО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия;

Капкаева Р.Х., к.м.н., ассистент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии медицинского института ФГБОУ ВО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия;

Чудайкин А.Н., аспирант кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии медицинского института ФГБОУ ВО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия;

Солдатова А.А., аспирант кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии медицинского института ФГБОУ ВО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия;

Мосина Л.М., д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии медицинского института ФГБОУ ВО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия;

Костина Ю.А., к.м.н., доцент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии медицинского института ФГБОУ ВО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия;

Солодовникова Г.А., к.х.н., доцент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии медицинского института ФГБОУ ВО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия.

Authors:

Matveeva L.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Medical Institute, National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation;

Kapkaeva R.H., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Medical Institute, National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation;

Chudaikin A.N., Postgraduate Student, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Medical Institute, National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation;

Soldatova A.A., Postgraduate Student, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Medical Institute, National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation;

Mosina L.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Hospital Therapy, Medical Institute, National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation;

Kostina Yu.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Medical Institute, National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation;

Solodovnikova G.A., PhD (Chemistry), Associate Professor, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Medical Institute, National Research Mordovia State University, Saransk, Republic of Mordovia, Russian Federation.

Поступила в редакцию 16.12.2020
Отправлена на доработку 31.10.2021
Принята к печати 31.10.2021

Received 16.12.2020
Revision received 31.10.2021
Accepted 31.10.2021

ДИСБАЛАНС ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ ОРГАНИЗМА, ИНФЕКЦИЯ И ФАКТОРЫ МУТАГЕНЕЗА В ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРИРОДНО-ОЧАГОВОГО ФАКТОРА СРЕДЫ ОБИТАНИЯ — ИНВАЗИИ ТРЕМАТОДЫ *OPISTHORCHIS FELINEUS*

А.Г. Рыбка

ФГАОУ ВО Тюменский государственный университет, г. Тюмень, Россия

Резюме. В статье рассмотрена взаимосвязь снижения противоинойфекционной защиты организма на фоне длительной инвазии *Opisthorchis felineus* в гепатобилиарной системе, обсеменения протоковой желчи микрофлорой и выявления в желчи эндогенного фактора мутагенеза (канцерогенеза) — вторичных желчных кислот. Показана роль генотипа организма в иммунном ответе на патоген — трематоду *Opisthorchis felineus* — и в развитии гельминта в гепатобилиарной системе. Рассмотрено значение нарушения механизмов регуляции тканевого гомеостаза в индукции компенсаторной хронической гомеостатической пролиферации и онкогенезе соматических клеток. Результаты исследования свидетельствуют о том, что в обусловленном хронической описторхозной инвазией дисбалансе иммунобиологической реактивности организма особое значение имеет нарушение функционирования регуляторных Т-клеток, угнетение эффекторной функции НК и весьма высокая функциональная активность В-клеток памяти. Снижение противоинойфекционной защиты организма обуславливает обсемененность внутрипеченочных желчных протоков различными видами бактерий. Наличие вторичных желчных кислот в гепатобилиарной системе ассоциировалось с билиарными штаммами бактерий, населяющих кишечный тракт: *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Bacteroides alcaligues faecalis*, *Clostridium*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* — представители кишечной микрофлоры и др. Участие микробиоты в биотрансформации желчных кислот непосредственно в протоковой желчи подтверждено в экспериментах *in vitro*. Экспресс-методами на *Drosophila melanogaster* и штаммах *Salmonella typhimurium* TA100, TA98 установлено, что желчь у больных хроническим описторхозом обладает более высокой мутагенной активностью, чем в группах контроля. Мутационные события в соматических и бактериальных клетках зависят от присутствия в протоковой желчи вторичных желчных кислот (дезоксихолевой, литохолевой), а также уровня общей концентрации желчных кислот. Результаты исследования подтверждают концепцию профессора А.А. Шайна о наличии в желчи больных хроническим описторхозом эндогенного фактора риска первичного холангиоцеллюлярного рака печени — вторичных желчных кислот. Концепция холангиоканцерогенеза,

Адрес для переписки:

Рыбка Ангелина Григорьевна
625003, Россия, г. Тюмень, ул. Володарского, 6,
ФГАОУ ВО Тюменский государственный университет.
Тел.: 8 (345) 259-74-91 (раб.), 8 912 382-32-59 (моб.).
E-mail: a.g.rybka@utmn.ru

Contacts:

Angelina G. Rybka
625003, Russian Federation, Tyumen, Volodarskogo str., 6,
Tyumen State University.
Phone: +7 (345) 259-74-91 (office), +7 912 382-32-59 (mobile).
E-mail: a.g.rybka@utmn.ru

Для цитирования:

Рыбка А.Г. Дисбаланс иммунобиологической реактивности организма, инфекция и факторы мутагенеза в гепатобилиарной системе при воздействии природно-очагового фактора среды обитания — инвазии трематоды *Opisthorchis felineus* // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 172–178. doi: 10.15789/2220-7619-IIR-1737

Citation:

Rybka A.G. Imbalanced immunobiological reactivity, infection and mutagenesis factors in the hepatobiliary system affected by a natural focal habitat factor — a trematode invasion by *Opisthorchis felineus* // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 172–178. doi: 10.15789/2220-7619-IIR-1737

основанная на мутационных событиях, дополняется нарушением генеративного цикла клеток тканей и их дифференцировки в результате снижения активности кейлонного фактора, а также порога чувствительности к нему. Уровень изученности и понимание механизмов холангиокарциногенеза на фоне хронической описторхозной инвазии позволят разработать патогенетические подходы к коррекции систем регуляции гомеостаза организма и профилактики холангиокарцином.

Ключевые слова: *Opisthorchis felineus*, описторхи, инвазия, хронический описторхоз, иммунобиологическая реактивность, иммунологическая память, клетки памяти, антигены, антитела, иммунные комплексы, генотип, генотипические свойства, холангиоциты, пролиферация, микрофлора/микробиота, первичные/вторичные желчные кислоты, эндогенные мутагены (канцерогены), соматические мутации, канцерогенез, холангиокарцинома, холангиокарциногенез.

IMBALANCED IMMUNOBIOLOGICAL REACTIVITY, INFECTION AND MUTAGENESIS FACTORS IN THE HEPATOBILIARY SYSTEM AFFECTED BY A NATURAL FOCAL HABITAT FACTOR — A TREMATODE INVASION BY *OPISTHORCHIS FELINEUS*

Rybka A.G.

Tyumen State University, Tyumen, Russian Federation

Abstract. An interaction between decreasing host anti-infective defense due to long-term invasion with *Opisthorchis felineus* in the hepatobiliary system, duct bile colonization by microflora and revealing the endogenous mutagenesis (carcinogenesis) factor in bile — secondary bile acids — is considered in the article. The role of organism genotype in pathogen-related immune response to *Opisthorchis felineus* trematode and helminth development in the hepatobiliary system has been shown. The role of dysregulated mechanisms of tissue homeostasis in induction of compensatory chronic homeostatic proliferation and somatic cell oncogenesis is discussed. The study results evidence that disturbed functioning of regulatory T cells, inhibition of the NK cell effector function and very high functional activity of memory B cells are of great importance in imbalanced host immunobiological reactivity, caused by chronic opisthorchis invasion. Decreased host anti-infective protection causes intrahepatic bile duct infection with different bacterial species. Presence of secondary bile acids in hepatobiliary system was associated with biliary bacterial strains inhabiting intestinal tract: *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Bacteroides alcaligues faecalis*, *Clostridium*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* — gut microflora agents. Participation of microbiota in bile acid biotransformation immediately in the duct bile has been confirmed in experiments *in vitro*. Experimental methods on *Drosophila melanogaster* and *Salmonella typhimurium* strains: TA100, TA98 allowed to find out that bile from chronic opisthorchiasis patients exerts higher mutagenic activity compared to control groups. Mutational events in somatic and bacterial cells depend on the presence of secondary bile acids (deoxycholic, lithocholic) in duct bile, as well as the level of total bile acid concentration. The study data confirm the concept by Professor A.A. Shain about the presence of endogenous risk factor for developing primary cholangiocellular liver cancer such as secondary bile acids in the bile of chronic opisthorchiasis patients. A concept of cholangiocarcinogenesis, based on mutational events, is added up with disturbance of generative cycle in tissue cells and their differentiation due to decreased chalone factor activity, as well as sensitivity threshold to it. Level of investigation and understanding of mechanisms underlying cholangiocarcinogenesis during chronic opisthorchis invasion will allow to develop pathogenetic approaches to correct homeostasis regulation and prevention of cholangiocarcinomas.

Key words: *Opisthorchis felineus*, opisthorchis, invasion, chronic opisthorchiasis, immunobiological reactivity, immunological memory, memory cells, antigens, antibodies, immune complexes, genotype, genotypic properties, cholangiocytes, proliferation, microflora/microbiota, primary/secondary bile acids, endogenous mutagens (carcinogens), somatic mutations, carcinogenesis, cholangiocarcinoma, cholangiocarcinogenesis.

Введение

Интенсивное освоение энергетических ресурсов Тюменского региона обусловило ряд экологических проблем, затронувших, прежде всего, человека, его здоровье, работоспособность, качество жизни.

Одним из значимых природных экологических факторов данного региона, оказывающим неблагоприятное воздействие на гепатобилиарную и другие системы организма человека, является паразитирование трематоды *Opisthorchis felineus* в желчных протоках. В связи с тем, что в Обь-Иртышском бассейне, гиперэндемичном

по распространению гельминта, частота возникновения холангиокарцином (ХК) выше в 10–13 раз по сравнению с другими регионами, где население не инвазировано, описторхоз рассматривают как факультативный предрак печени [9, 10].

В 1983 г. член-корреспондент РАЕН, профессор А.А. Шайн предложил концепцию, согласно которой при хронической паразитарной нагрузке природного биотического фактора *Opisthorchis felineus* на организм в желчи внутрипеченочных протоков под влиянием ферментов сопутствующей кишечной микрофлоры образуются эндогенные мутагены (канцерогены) — вторичные желчные кислоты (ВЖК). Другие эпигенетичес-

кие факторы: холестаза, повреждение тканей внутрипеченочных желчных протоков присосками паразитов, активация пролиферации протокового эпителия, вторичные иммунодефицитные состояния и т. д. — способствуют развитию неоплазмы, то есть являются промоторами [10]. Значимая роль в регуляции гомеостаза организма в концепции А.А. Шайна отводится иммунной системе, эволюционное предназначение которой — обеспечивать противoinфекционную и антитуморогенную защиту.

Отсутствие в литературе данных по исследованию у больных хроническим описторхозом (ХО) роли сопутствующей паразитированию гельминта кишечной микрофлоры внутрипеченочных протоков в образовании эндогенных факторов в желчи, способных инициировать мутагенный (канцерогенный) процесс в холангиоцитах, обусловило проведение настоящей работы. Исследовалось влияние хронической инвазии трематоды *Opisthorchis felineus* на состояние иммунобиологической реактивности организма и на инфицирование внутрипеченочных желчных протоков кишечной микрофлорой, изучалась возможность участия микробиоты в метаболизме желчных кислот непосредственно в протоковой желчи и биологическое действие эндогенных факторов желчи — ВЖК — на соматическую клетку.

Материалы и методы

Часть исследований проводилась на инбредных мышах линий СВА/Лас, А/сн, С57В1/6, F₁ [СВА/Лас × С 57 В1/6] (Y).

Метацеркарии из рыбы выделяли стандартным методом. Мышей инвазировали с помощью глазной пипетки: вводили в ротовую полость по 40 шт. метацеркариев в 0,9% NaCl. Инвазия животных описторхами подтверждалась следующими признаками: увеличение холедоха в размерах, изменение цвета печени и наличие гельминтов (взрослых особей) в гепатобилиарном тракте [6].

Изучение функциональной активности клеток иммунологической памяти осуществлялось по вторичной индукции Т-киллеров и анти-телообразующих клеток (АОК) у мышей, сенсibilизированных антигенами метацеркариев с оценкой в два этапа: через 24 часа и через 10 суток после вторичной иммунизации.

Функциональную активность Т-киллеров *in vivo* определяли по способности сенсibilизированных аллогенными клетками костного мозга лимфоцитов из лимфоузлов инактивировать клетки-мишени в летально облученном реципиенте (850R/115 мин, подсчет количества колониеобразующих единиц/КОЕ в селезенке) или в микротесте *in vitro*: 1) по способности цитостазировать клетки-мишени (EL-4, К — 562

и др.), меченные Н³-тимидином; 2) по освобожденному клетками-мишенями Cr⁵¹ в супернатанте. Количество АОК в селезенке определяли методом локального гемолиза в геле [6].

Бактериологические исследования по обсеменности желчи больных ХО (в том числе групп сравнения) и эксперименты *in vitro* по влиянию кишечной микрофлоры на качественный состав желчных кислот в желчи выполнены совместно с микробиологической лабораторией Роспотребнадзора Тюменской области. Образцы желчи больных ХО и групп сравнения любезно были предоставлены НИИКИП, поликлиникой ГТГ г. Тюмени, поликлиникой НГДУ г. Сургута. Для выполнения экспериментальных исследований автоклавировали пулированную желчь (20 мин./1,2 атм.), определяли качественный состав ЖК, разливали по пробиркам с добавлением культуральной среды Игла с глутамином (5 мл Ж/1 мл культуральной среды). Посев бактерий производился в дозах 10³, 10⁶, 10⁹/1 мл физраствора на пробирку соответственно. Через определенные сроки культивирования бактерий (7, 14, 21 и 30 дней) определяли их жизнеспособность и качественный состав ЖК в желчи.

Общее количество желчных кислот определяли методом спектрофотометрии (СФ-46, длина волны — 347 нм). Качественный состав ЖК исследовали с использованием метода тонкослойной хроматографии (на пластинах Silufol-154, Чехия).

Мутагенные свойства желчи и ЖК исследовали экспресс-методами на *Drosophila melanogaster* (личинки F1 Y⁺/+WSn) и в тесте Эймса (на штаммах *Salmonella typhimurium* TA100, TA98).

Пролиферативная активность (ПА) клеток, в том числе при исследовании кейлонов, тестировалась с использованием радиоактивной метки (Н³-тимидин) и последующей радиометрией в жидком сцинтилляторе на β-счетчике [6].

Кейлонсодержащую фракцию для биологического тестирования выделяли из ткани путем осаждения белковых компонентов из водного гомогената ткани 70–81% этанолом, экстракт лиофилизировали. Тестирование выполняли на инбредных животных с частичной гепатэктомией: СВА/Лас, С57 В1/6, F₁ [СВА/Лас × С 57 В1/6] (Y).

Статистические расчеты производили с применением стандартных методов.

Результаты и обсуждение

Необходимо отметить, что в настоящее время многими исследователями обсуждается весьма интересный вопрос о роли генетических особенностей организма в развитии инвазии трематоды *Opisthorchis felineus* и ее течении.

Роль генотипа организма в подавлении развития описторхов и снижения их количества в желчных протоках печени была установлена еще в середине восьмидесятых, данные кратко освещены на конференции «Актуальные проблемы описторхоза» (1986). Иммуный ответ организма всегда направлен на элиминацию патогена из организма. Результаты исследования показали различия в состоянии иммунореактивности организма у восприимчивых к описторхозной инвазии инбредных мышей (линия СВА/Лас, Y) и резистентных (линия С57Bl/6, Y). Наряду с иммуносупрессивным состоянием мышей линии СВА/Лас (Y), у резистентных к описторхозной инвазии животных наблюдалось некоторое напряжение иммунитета. Это свидетельствует о том, что сохраненный уровень иммунобиологической реактивности при инвазии *Opisthorchis felineus*, опосредованный генотипическими свойствами организма, является фактором торможения развития описторхов в гепатобилиарной системе.

Фундаментально-прикладные исследования прошлых лет [6, 9, 10] показали, что изменение иммунного статуса организма индуцируется уже антигенами метацеркариев, и при хроническом процессе описторхозной инвазии формируется существенный дисбаланс его иммунобиологической реактивности.

В связи с тем, что организм людей, проживающих в эндемичных районах, инвазируется гельминтом *Opisthorchis felineus* многократно, особый интерес в его иммунобиологическом ответе на инвазию трематодой представляют длительно живущие антигенспецифические покоящиеся лимфоциты — Т- и В-клетки памяти.

Нами в эксперименте на инбредных мышках установлено, что функциональная активность Т-клеток памяти при сенсibilизации организма антигенами метацеркариев достаточно высокая. Наряду с этим, функциональная активность В-клеток памяти выражена более значительно и превышает активность Т-клеток памяти в несколько десятков раз. Отсюда следует, что антигенные структуры личинок описторхов обладают высокой иммуногенностью и, с учетом изменения иммунорегуляторного индекса в сторону снижения супрессорной функции Т-лимфоцитов [6], запускают формирование аутоиммунных процессов [4]. Кроме того, угнетение важного звена врожденного иммунитета — эффекторной функции NK — и других составляющих иммунобиологической реактивности организма, в том числе функции Т-киллеров [6], свидетельствует о снижении его антипаразитарной/противоинфекционной защиты и значительно повышает риск реализации канцерогенного воздействия любого фактора [7].

Вышеописанные закономерности — зависимость иммунобиологической реактивности и развития жизнеспособных описторхов от генетических особенностей организма — позднее были подтверждены работами сотрудников НИИКИП: Косыревой А.Н. и соавт. (2019) и Григорьевой С.А. и соавт. (2021). Ими показано, что генотип организма определяет направленность иммунореактивности организма в отношении возбудителя паразитарной инвазии *Opisthorchis felineus* и, как следствие, обуславливает развитие определенных клинических форм описторхоза.

Известно, что дисбаланс иммунобиологической реактивности, в том числе аутоиммунные процессы, отражает нарушение механизмов регуляции гомеостаза организма и свидетельствует о существенном снижении его надзорных противоинфекционных свойств.

Результаты исследования 102 образцов желчи больных хроническим описторхозом (II и III порции, до и после дегельминтизации) показали наличие в ней сопутствующей гельминтам микрофлоры, в том числе кишечной: до лечения — в 77% случаев, после дегельминтизации — в 95,2% случаев с увеличением видов бактерий. Чаще других бактерий в желчи больных хроническим описторхозом выявляются следующие виды: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Escherichia coli*¹, *Neisseria perflava*. В меньшем проценте случаев высевались такие представители кишечной микрофлоры, как *Bacteroides alcaligenes faecalis**, *Proteus mirabilis**, *Streptococcus faecalis**, *Streptococcus agalactiae*, *Clostridium** и др. Данные свидетельствуют о том, что желчную систему колонизирует многокомпонентная микрофлора.

Обсемененность протоковой желчи при патологии гепатобилиарной системы была показана другими авторами. В видовой структуре микрофлоры желчи у больных при гнойном холангите Витебским Я.Д. и соавт. [1] отмечено, что аэробный ряд представлен различными видами энтеробактерий и протей, стрептококками, стафилококками. Основным возбудителем инфекции являлась кишечная палочка. Среди неклостридиальных анаэробов чаще всего высевались бактероиды и фузобактерии. По данным Кошаевой М.Д. [3], при остром гнойном холангите чаще всего из бактероидов с высокой степенью концентрации встречается *Bacteroides fragilis*. Хохлачевой Н.А. и соавт. [8] выявлено, что у больных с повышенным риском камнеобразования в желчном пузыре определялась активность родов микробиоты, которые уча-

¹ Здесь и далее звездочкой (*) отмечены представители кишечной микрофлоры.

ствуют в 7-альфа-дегидроксилировании ЖК: аэробных микроорганизмов (*Escherichia coli* и др.) и анаэробов (определенных штаммов родов бактероидов, клостридий и др.).

Нами установлено, что при наличии в образцах желчи микрофлоры наблюдаются некоторые особенности в концентрации желчных кислот и их качественного состава. Общий уровень желчных кислот в инфицированной желчи в среднем на 30% выше, чем при отсутствии микрофлоры. Выявление в образцах желчи неконъюгированной первичной желчной кислоты (ПЖК) — холевой (Х) и вторичных желчных кислот (ВЖК) — литохолевой и дезоксихолевой (ЛХ, ДХ соответственно), а также их сочетания (Х+ДХ; ЛХ+ДХ; Х+ДХ+ЛХ) ассоциировалось в основном со следующими билиарными штаммами бактерий (населяющими кишечный тракт): *Proteus vulgaris**, *Proteus mirabilis**, *Citrobacter freundii**, *Bacteroides alcaligues faecalis**, *Clostridium**, *Streptococcus faecalis**, *Escherichia coli** и др. Среди деконъюгированных желчных кислот ВЖК составляли 50%.

Кроме того, участие кишечной микрофлоры в метаболизме ЖК было подтверждено исследованиями *in vitro*. Установлено, что инфицирование желчи культурами энтеробактерий приводит к метаболизму желчных кислот: инфицирование *Bacteroides alcaligues faecalis** — к деконъюгации таурохолевой (ТХ) и гликохенодезоксихолевой (ГХДХ) желчных кислот, образованию ДХ кислоты; *Proteus vulgaris** — к деконъюгации гликодезоксихолевой (ГДХ), образованию ДХ кислоты; *Citrobacter freundii** — к деконъюгации гликохолевой (ГХ) и ГДХ кислот; *Streptococcus faecalis** — к деконъюгации ГХ и ГДХ кислот. При посеве в желчь культур бактерий *Salmonella typhimurium* и *Streptococcus aureus* каких-либо изменений качественного состава желчных кислот не выявлено.

Влияние энтерофлоры на метаболизм ЖК *in vitro* было описано другими авторами. Исследованиями, проводимыми с С24-холевой кислотой, меченной тритием в седьмом положении, показано, что многие штаммы *Bacteroides* spp., *Streptococcus*, *Baccalis*, *Clostridium* spp. и *Rulonnella* способны удалять 7 α -оксигруппу у некоторых солей, Х и хенодезоксихолевой (ХДХ), образуя соли ДХ и ЛХ. Некоторые из этих культур оказались способными удалять 12 α -оксигруппу. Ферментируя Х с культурой *Corynebacterium simplex*, выросшей на среде, содержащей Х в качестве единственного источника углерода, обнаружили среди продуктов превращения вещества, лишенные 7 α -оксигруппы. Перечисленные микроорганизмы способны также деконъюгировать желчные кислоты [14].

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что нарушение микро-

экологии пищеварительного тракта — инфицирование желчи кишечной микрофлорой — обуславливает деконъюгацию ПЖК и образование ВЖК в желчи внутрипеченочных протоков, тогда как в норме этот процесс осуществляется в кишечнике. ВЖК (ЛХ и ДХ) в желчи больных хроническим описторхозом определяются в 30% случаев.

Известно, что ВЖК являются мутагенами и канцерогенами. Ряд авторов отмечают, что желчные кислоты участвуют в развитии злокачественных новообразований пищеварительного тракта [15]. Нарушение качественного и количественного состава ЖК в рефлюктате тесно связано с предраковыми состояниями желудка и злокачественными новообразованиями [12]. Другие исследователи, опираясь на эпидемиологические данные, свидетельствуют о том, что концентрация и состав желчных кислот в кале являются важными этиологическими факторами развития колоректального рака [16].

Эксперименты показали, что желчь больных хроническим описторхозом обладает существенно большей мутагенной активностью, чем желчь группы сравнения (ГС). Частота мутационных событий в соматических клетках под воздействием II порции желчи больных ХО превышает данный показатель в группе сравнения на 292%, III порции — на 122,4%. Аналогичные данные были получены в тесте Эймса. Мутагенный эффект желчи инвазированных инбредных мышей превышал контроль на обоих штаммах в 5–10 раз.

Анализ генотоксичности желчи в зависимости от ее биохимического состава показал, что в случае индукции соматических мутаций (СМ) в желчи по сравнению с пулом, не индуцирующим мутагенный эффект, более чем в два раза чаще обнаруживалась ДХ кислота. Необходимо отметить, что при этом наблюдалось возрастание процента выявления ГДХ и ГХ кислот: 32 и 22% соответственно. Кроме того, при высоком уровне общей концентрации желчных кислот (1613,2 \pm 212,0) индуцируется и высокий уровень соматических мутаций (3,38 \pm 1,4). И напротив, при низком уровне общей концентрации желчных кислот (255,6 \pm 24,1) наблюдается невысокий уровень соматических мутаций (0,28 \pm 0,05).

Необходимо обратить внимание на тот факт, что в процессе канцерогенеза задействуются также механизмы, которые отвечают как за размножение и рост клеток, так и за процесс их дифференцировки.

Ранее нами было показано [6], что длительное паразитирование в организме гельминта *Opisthorchis felinus*, опосредующее гибель определенного количества клеток, индуцирует в тканях различных органов активацию гомеостатической пролиферации [4].

В пролиферативных процессах клеток задействован механизм регуляции тканевого гомеостаза, который имеет большое значение и при канцерогенезе [13]. Функцию основного «ингибитора» пролиферации клеток выполняют кейлоны — медиаторы, которые синтезируются дифференцированными клетками различных тканей (в том числе опухолевых) и обладают тканеспецифичностью.

Экспериментальные результаты исследования свидетельствуют о том, что продолжительная описторхозная инвазия индуцирует повышение пролиферации клеток печени (на 36%) за счет снижения активности кейлонного фактора, а также и чувствительности к нему гепатоцитов. В тканях других органов животных (почек, желудка, поджелудочной железы) наблюдались аналогичные результаты. Кейлонный фактор, полученный из ткани печени неинвазированных описторхами животных, снижал уровень митотической активности гепатоцитов в 3 раза по сравнению с инвазированными. Установленные закономерности на тканях указанных органов мышей дают основания экстраполировать полученные данные на протоковый эпителий (не представлялось возможным выделить ткани для получения фракции кейлонного фактора). Вероятно, на фоне хронической гомеостатической пролиферации кейлонный механизм тканевой регуляции нарушается в результате прогрессирующей эмбрионализации клеток тканей.

Заключение

Из представленных данных следует, что при хроническом описторхозе билиарная система колонизируется многокомпонентной микробиотой, часть штаммов которой участвует в биотрансформации желчных кислот непосредственно в желчи с образованием неконъю-

гированных ПЖК (Х), ВЖК (ЛХ и ДХ), согласно концепции А.А. Шайна — факторов риска для развития холангиокарцином.

Необходимо отметить, что холестаза, индуцированный длительной жизнедеятельностью описторхов в печеночных протоках, обуславливает высокую концентрацию неконъюгированных ПЖК и ВЖК в протоковой желчи, длительность их контакта с холангиоцитами, обеспечивая механизм действия «доза—эффект». Накопление повреждений и мутаций ДНК приводит к утрате соматическими клетками нормальных биологических функций [2]. Известно, что мутационные события связаны с механизмами канцерогенеза [2, 11], особенно в случае активации в организме пролиферативных процессов [6].

Кроме того, для возникновения и развития процесса онкогенеза на фоне описторхозной инвазии особую значимость будет иметь и выявленное нами нарушение механизмов тканевого гомеостаза, обуславливающее отсутствие контроля над митотическим циклом и процессом дифференцировки клеток.

Некоторые исследователи считают, что в основе аутоиммунных и онкологических заболеваний лежат инфекции, которые индуцируют комплексные изменения в тимусе [5]. Исходя из функций иммунной системы, можно полагать, что дисбаланс иммунобиологической реактивности организма, обусловленный паразитированием *Opisthorchis felinus*, способствует как развитию микробиоты в гепатобилиарной системе, так и процессу малигнизации холангиоцитов, то есть является одним из ведущих промоторных факторов холангиокарциногенеза.

Полученные данные позволят более обоснованно сформировать патогенетические подходы к методологии коррекции систем регуляции гомеостаза организма и профилактики холангиокарцином у больных ХО до и после дегельминтизации.

Список литературы/References

1. Витебский Я.Д., Веселов А.Я., Чернов В.Ф. Изучение механизмов инфицирования желчи // Физиология и хирургия печени. 1982. С. 48–49. [Vitebsky Ya.D., Veselov A.Ya., Chernov V.F. Study of bile infection mechanisms. *Fiziologiya i khirurgiya pecheni = Liver Physiology and Surgery*, 1982, pp. 48–49. (In Russ.)].
2. Жестяников В.Д. Репарация ДНК и ее биологическое значение. Л.: Наука, 1979. 285 с. [Zhestyanikov V.D. DNA reparation and its biological significance. *Leningrad: Nauka*, 1979. 285 p. (In Russ.)].
3. Кашаева М.Д. Микрофлора желчи при остром гнойном холангите на фоне механической желтухи неопухолевой этиологии // Успехи современного естествознания. 2011. № 1. С. 135–137. [Kashayeva M.D. Microflora of bile in acute purulent cholangitis on the background of mechanical jaundice of non-tumor etiology. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya = Advances in Current Natural Sciences*, 2011, no. 1, pp. 135–137. (In Russ.)].
4. Козлов В.А. Клетки-супрессоры — основа иммунопатогенеза аутоиммунных заболеваний // Медицинская иммунология. 2016. Т. 18, № 1. С. 7–15. [Kozlov V.A. Suppressor cells — the basis of immunopathogenesis autoimmune diseases. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, vol. 18, no. 1, pp. 7–15. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2016-1-7-14
5. Козлов В.А. Селекция клеток в тимусе и гомеостатическая пролиферация клеток на периферии при инфекционных процессах // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 5–6. С. 629–638. [Kozlov V.A. Cell selection in the thymus and homeostatic cell proliferation in the periphery during infectious processes. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, vol. 9, no. 5–6, pp. 629–638. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-629-638

6. Рыбка А.Г. К вопросу о влиянии биотического фактора – инвазии трематоды *opisthorchis felineus* на состояние иммунного статуса организма и пролиферативную активность соматических клеток // *Инфекция и иммунитет*. 2016. Т. 6, № 3. С. 232–236. [Rybka A.G. On the influence of the biotic factor – invasion of trematode *opisthorchis felineus* on the immune status of the body and proliferative activity of somatic cells. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2016, vol. 6, no. 3, pp. 232–236. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2016-3-232-236
7. Саранцева К.А., Лактионова Л.В., Реутова Е.В., Черненко П.А., Бредер В.В. Иммунология: иммунный ответ как ведущий фактор защиты от рака // *Злокачественные опухоли*. 2016. № 2. С. 5–14. [Sarantseva K.A., Laktionova L.V., Reutova E.V., Chernenko P.A., Breder V.V. Immunology: immune response as leading protectionfactor against cancer. *Zlokachestvennyye opukholi = Malignant Tumours*, 2016, no. 2, pp. 5–14. (In Russ.)] doi: 10.18027/2224-5057-2016-2-5-14
8. Хохлачева Н.А., Глазырина Н.Н., Лукашевич А.П., Вахрушев Я.М., Косарева Т.С. Роль микрофлоры кишечника в развитии желчнокаменной болезни (обзор литературы) // *Архив внутренней медицины*. 2020. Т. 1, № 1. С. 31–37. [Khokhlacheva N.A., Glazyrina N.N., Lukashevich A.P., Vakhrushev Ya.M., Kosareva T.S. The role of intestinal microflora in the development of cholelithiasis (review of literature). *Arkhiv vnutrnney meditsiny = Archive of Internal Medicine*, 2020, vol. 1, no. 1, pp. 31–37. (In Russ.)] doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-1-31-37
9. Шайн А.А., Комиссаренко В.Г. Некоторые показатели клеточного иммунитета при первичном раке и неопухолевых заболеваниях печени // *Вопросы онкологии*. 1981. Т. 27, № 1. С. 36–40. [Shain A.A., Komissarenko V.G. Some indices of cellular immunity in primary cancer and non-tumor liver diseases. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology*, 1981, vol. 27, no. 1, pp. 36–40. (In Russ.)]
10. Шайн А.А., Шаназаров Н.А., Бабинов Б.Н., Федоров Н.М., Левина Е.С., Сабиров А.Х., Синяков А.Г., Шунько Е.Л., Кондратьев Н.П. Кафедра онкологии Тюменской ГМА. Сорок лет научно-исследовательской и педагогической работы // *Тюменский медицинский журнал*. 2010. № 2. С. 8–11. [Shain A.A., Shanazarov N.A., Babinov B.N., Fedorov N.M., Levina E.S., Sabirov A.K., Sinyakov A.G., Shunko E.L., Kondratyev N.P. Department of Oncology Tyumen State Medical Academy. Forty years of research and teaching. *Tyumenskiy meditsinskiy zhurnal = Tyumen Medical Journal*, 2010, no. 2, pp. 8–11. (In Russ.)]
11. Шапот В.С. Биохимические аспекты опухолевого роста. М.: Медицина, 1975. 302 с. [Shapot V.S. Biochemical aspects of tumor growth. *Moscow: Medicine*, 1975. 302 p. (In Russ.)]
12. Щелоченков С.В. Роль желчных кислот в канцерогенезе желудка // *Эффективная фармакотерапия*. 2020. Т. 16, № 30. С. 50–55. [Schelochenkov S.V. The role of bile acids in gastric carcinogenesis. *Effektivnaya farmakoterapiya = Effective Pharmacotherapy*, 2020, vol. 16, no. 30, pp. 50–55. (In Russ.)].
13. Dexter T.M., White H. Growth without inflation. *Nature*, 1990, vol. 24, pp. 380–381.
14. Hill M.J. The effect of some factors on the faecal concentration of acid steroids, neutral steroids and urobilins. *J. Pathol.*, 1971, vol. 104, no. 4, pp. 239–245. doi: 10.1002/path.1711040405
15. Payne C.M., Bernstein C., Dvorak K., Bernstein H. Hydrophobic bile acids, genomic instability, Darwinian selection, and colon carcinogenesis. *Clin. Exp. Gastroenterol.*, 2008, vol. 1, pp. 19–47. doi: 10.2147/ceg.s4343
16. Reddy B.S., Engle A., Simi B., Goldman M. Effect of dietary fiber on colonic bacterial enzymes and bile acids in relation to colon cancer. *Gastroenterology*, 1992, vol. 102, no. 5, pp. 1475–1482. doi: 10.1016/0016-5085(92)91704-8

Автор:

Рыбка А.Г., к.б.н., старший научный сотрудник, доцент кафедры физической географии и экологии ФГАОУ ВО Тюменский государственный университет, г. Тюмень, Россия.

Author:

Rybka A.G., PhD (Biology), Senior Researcher, Associate Professor, Department of Physical Geography and Ecology, Tyumen State University, Tyumen, Russian Federation.

Поступила в редакцию 21.05.2021
Принята к печати 04.11.2021

Received 21.05.2021
Accepted 04.11.2021

ВАРИАНТЫ ЦИТОПЕНИИ У ЛЮДЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ СТАДИЯМИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Д.В. Барышникова¹, А.В. Мордык¹, Л.В. Пузырева^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Омск, Россия

² БУЗОО Инфекционная клиническая больница № 1 им. Далматова Д.М., г. Омск, Россия

Резюме. ВИЧ-инфекция и ее осложнения уже много лет являются одной из наиболее обсуждаемых проблем в мире. Вирус иммунодефицита человека не только приводит к ослаблению иммунной системы, но и нарушает нормальный гемопоэз: проявлением данного патологического процесса является цитопения (анемии, тромбоцитопении и нейтропении). *Материалы и методы.* Проведен ретроспективный анализ случаев сочетания ВИЧ-инфекции и угнетения кроветворения по данным гемограмм у пациентов, поступивших на лечение в БУЗОО ИКБ № 1 имени Далматова Д.М., г. Омск. Критерием включения было наличие при госпитализации в развернутом анализе крови (с подсчетом уровня гемоглобина, количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов) цитопении. В исследование вошли пациенты различного возраста: 27 пациентов (24,6%) — от 20 до 29 лет, 69 пациентов (62,7%) — от 30 до 39 лет, 13 пациентов (11,8%) — от 40 до 49 лет и 1 пациент (0,9%) старше 50 лет. У всех пациентов наблюдалось угнетение хотя бы одного кроветворного ростка. Анемией считалось снижение гемоглобина менее 130 г/л у мужчин и менее 120 г/л у женщин. Эритроцитопенией считалось снижение эритроцитов менее $4,76 \times 10^{12}/л$. Лейкопению определяли как снижение общего числа лейкоцитов менее $4,0 \times 10^9/л$, при этом нейтропенией считалось снижение абсолютного количества нейтрофилов менее 1000 клеток/мкл. Тромбоцитопения определялась при снижении тромбоцитов менее $150 \times 10^9/л$. *Результаты.* Все пациенты имели угнетение хотя бы одного ростка кроветворения. У 6 пациентов со 2 стадией имелись односторонние цитопении, у 7 — двухсторонние. При анализе полученных результатов можно сделать вывод о том, что у пациентов со 2 стадией ВИЧ преобладают угнетения эритроидного и тромбоцитарного ростков, при этом тромбоцитопения достигала IV степени. У пациентов с 3 стадией имелось угнетение каждого из ростков кроветворения, но оно носило изолированный характер. У 46 пациентов с 4 стадией имелось угнетения одного из ростков кроветворения, у 44 пациентов отмечены двухлинейные цитопении. Для пациентов с 4 стадией ВИЧ характерно снижение в гемограмме количества всех клеточных элементов крови, эти нарушения имеют более тяжелый и стойкий характер.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, цитопения, анемия, тромбоцитопения, лейкопения, иммунодефицит.

HUMAN CYTOPENIA VARIANTS AT DIVERSE HIV INFECTION STAGES

Baryshnikova D.V.^a, Mordyk A.V.^a, Puzyreva L.V.^{a, b}

^a Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

^b Dalmatov D.M. Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1, Omsk, Russian Federation

Abstract. Over decades, HIV infection and its complications have been one of the most debated problems in the world. The human immunodeficiency virus not only weakens the immune system, but also disrupts normal hematopoiesis

Адрес для переписки:

Барышникова Дарья Владимировна
644099, Россия, г. Омск, ул. Ленина, 12,
Омский государственный медицинский университет.
Тел.: 8 (3812) 24-12-09 (служебн.), 8 906 991-17-02 (моб.).
E-mail: dashenkabar@mail.ru

Contacts:

Daria V. Baryshnikova
644099, Russian Federation, Omsk, Lenina str., 12,
Omsk State Medical University.
Phone: +7 (3812) 24-12-09 (office), +7 906 991-17-02 (mobile).
E-mail: dashenkabar@mail.ru

Для цитирования:

Барышникова Д.В., Мордык А.В., Пузырева Л.В. Варианты цитопении у людей с различными стадиями ВИЧ-инфекции // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 179–184. doi: 10.15789/2220-7619-HCV-1652

Citation:

Baryshnikova D.V., Mordyk A.V., Puzyreva L.V. Human cytopenia variants at diverse HIV infection stages // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 179–184. doi: 10.15789/2220-7619-HCV-1652

manifested as cytopenia (anemia, thrombocytopenia and neutropenia). *Materials and methods.* A retrospective analysis of cases of combined HIV infection and inhibited hematopoiesis was carried out according to hemogram data of patients admitted for treatment at the Infectious Clinical Hospital No. 1 named after D. Dalmatov, Omsk. The inclusion criteria were cytopenia during hospitalization detected in detailed blood test (by calculating hemoglobin level, counts of erythrocytes, leukocytes, platelets). The age of the patients included in the study differed: from 20 to 29 years — 27 patients (24.6%), from 30 to 39 years — 69 patients (62.7%), from 40 to 49 years — 13 patients (11.8%), over 50 years old 1 patient (0.9%). All patients had suppression of at least one hematopoietic cell lineage. Anemia was considered as decreased hemoglobin level below than 130 g/l in men and 120 g/l in women. Erythrocytopenia was considered as decreased erythrocyte count below $4.76 \times 10^{12}/L$. Leukopenia was defined as decreased total count of leukocytes below $4.0 \times 10^9/L$, while a decrease in the absolute count of neutrophils below 1000 cells/ μL was considered as neutropenia. Thrombocytopenia was determined as decreased platelet count below $150 \times 10^9/L$. *Results.* All patients had suppression of at least one hematopoietic cell lineage. 6 patients with stage 2 had one-cell lineage cytopenias, 7 — two-cell lineages. While analyzing the data obtained, it can be concluded that in patients with stage 2 HIV, inhibition of erythroid and platelet cell lineage predominates, whereas thrombocytopenia reached grade IV. At stage 3 HIV, all 7 patients had inhibition of only one cell lineage. In this group, the inhibition of hematopoiesis had a lighter degree in all hematopoietic cell lineages. In 46 patients with stage 4, there were various oppression of one of the hematopoietic cell lineages, in 44 patients there were two-cell lineage cytopenias. For patients with a more advanced stage of HIV, a decrease in the number of all cellular elements of the blood in the hemogram is characteristic; these disorders are more severe and persistent.

Key words: *HIV infection, cytopenia, anemia, thrombocytopenia, leukopenia, immunodeficiency.*

Введение

ВИЧ-инфекция и ее осложнения уже много лет являются одной из наиболее обсуждаемых проблем в мире. Вирус иммунодефицита человека не только приводит к ослаблению иммунной системы, но и нарушает нормальный гемопоэз. Проявлением данного патологического процесса является цитопения (анемии, тромбоцитопении и нейтропении) [1, 5].

Множественные взаимодействующие факторы способствуют развитию гематологических проявлений ВИЧ-инфекции. Вирус иммунодефицита человека влияет на все клоны гемопоэтических клеток, приводя к целому ряду гематологических аномалий. Даже при отсутствии других патологических процессов морфология костного мозга не соответствует норме, часто имеют место анемия, нейтропения и тромбоцитопения. Интеркуррентные оппортунистические инфекции могут вызывать угнетение костного мозга или специфические цитопении. Терапия, применяемая для лечения ВИЧ-инфекции, также может рассматриваться как причина гематологической дисфункции и часто дает миелотоксические побочные эффекты [5, 6].

Развитие цитопении у пациентов с ВИЧ-инфекцией на фоне антиретровирусной терапии и без нее вызывает большой интерес. У пациентов с ВИЧ-инфекцией в стадии вторичных заболеваний с цитопенией в гемограмме после высокоактивной антиретровирусной терапии наблюдается восстановление иммунитета, сопровождающееся увеличением количества лейкоцитов, тромбоцитов, эритро-

цитов и уровня гемоглобина, при этом в костном мозге могут сохраняться специфические аномалии [4, 6].

Цель работы — выявить особенности цитопений у пациентов в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции.

Материалы и методы

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. Выполнен ретроспективный анализ случаев сочетания у пациентов ВИЧ-инфекции и цитопении по данным развернутого анализа крови при госпитализации в БУЗОО Инфекционная клиническая больница № 1 имени Долматова Д.М. Главным критерием для включения в исследование было наличие в гемограмме при поступлении в стационар цитопении (анемии, лейкопении, тромбоцитопении). Всего было отобрано 110 человек: 89 мужчин (81%) и 21 женщина (19%). Распределение по стадиям выглядело следующим образом: у 4 человек (3,6%) установлена 2Б стадия ВИЧ-инфекции, у 9 человек (8,0%) — 2В стадия, 7 пациентов (6,4%) имели 3 стадию ВИЧ, у 40 человек (36,0%) установлена 4А стадия, у 41 человека (37,0%) — 4Б стадия и у 9 пациентов (8,0%) — 4В стадия. Пациенты распределялись на группы по возрасту: 27 пациентов (24,6%) — от 20 до 29 лет, 69 пациентов (62,7%) — от 30 до 39 лет, 13 пациентов (11,8%) — от 40 до 49 лет и 1 пациент (0,9%) старше 50 лет. Время от момента установления диагноза ВИЧ до включения в анализ было различным и со-

ставляло от 4 до 20 лет. Для оценки иммунного статуса у всех пациентов за время госпитализации проводилась оценка уровня CD4⁺ лимфоцитов. Их уровень колебался от 6 до 697 кл/мкл, с медианой значений 291 кл/мкл ($d = 0,13884$, $p < 0,05$).

Диагноз хронического вирусного гепатита С подтверждали обнаружением в сыворотке крови маркеров методом ИФА: наличие anti-HCV IgG. Для подтверждения положительного результата обязательным являлось определение антител к индивидуальным белкам вируса гепатита С (core, NS3, NS4, NS5), а также количественное определение РНК вируса методом ПЦР. До поступления в стационар пациенты с хроническим гепатитом С не получали противовирусную терапию.

Наличие вредных привычек оценивалось на основании опроса больных и регистрации анамнеза жизни в истории болезни. На момент включения в анализ или ранее 82 пациента (90,2%) употребляли различные наркотические вещества, 64 пациента (69,3%) злоупотребляли алкогольными напитками.

У всех пациентов в гемограмме имелась цитопения: одна-, двух- или трехростковая. Анемией считалось снижение гемоглобина менее 130 г/л у мужчин и менее 120 г/л у женщин. Эритроцитопенией считалось снижение эритроцитов менее $4,76 \times 10^{12}/л$. Лейкопению определяли как снижение общего числа лейкоцитов менее $4,0 \times 10^9/л$, снижение абсолютного количества нейтрофилов менее 1000 клеток/мкл решено было считать нейтропенией. Тромбоцитопения диагностировалась при снижении уровня тромбоцитов менее $150 \times 10^9/л$.

Анализ цитопений проводился по стадиям ВИЧ-инфекции, без учета фазы (прогрессирования или ремиссии) и подгрупп (А, Б, В). При установлении диагноза «ВИЧ-инфекция»

использовали Российскую классификацию ВИЧ-инфекции.

Статистические расчеты выполнялись с помощью программы Statistica 12.0. Проводился анализ показателей описательной статистики, достоверность различий величин и признаков в группах определяли с помощью критерия χ^2 , критерия Манна–Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

При распределении всех пациентов по стадиям ВИЧ-инфекции в каждой группе преобладали мужчины: 2 стадия — 12 мужчин, 1 женщина; 3 стадия — 6 мужчин, 1 женщина; 4 стадия — 70 мужчин, 20 женщин. При оценке факторов, которые, как и ВИЧ-инфекция, могут оказывать влияние на развитие цитопений, мы выделили употребление наркотических веществ, злоупотребление алкоголем, хронический вирусный гепатит С. В каждой из выделенных групп имелись пациенты с вредными привычками (употребление наркотических веществ, алкоголизм), при этом у части больных имелись обе. Так, 9 пациентов со 2 стадией ВИЧ-инфекции страдали алкоголизмом, 11 употребляли наркотические вещества, из больных с 3 стадией 7 из 7 употребляли наркотики, 6 злоупотребляли алкоголем, пациенты с 4 стадией также имели зависимости: алкогольную — 49 человек, наркотическую — 66 человек. При анализе заболеваемости хроническим вирусным гепатитом С выявили, что 10 человек со 2 стадией ВИЧ-инфекции страдали хроническим вирусным гепатитом С, у пациентов с 3 стадией хронический вирусный гепатит С выявлен не был, 63 из 90 человек с 4 стадией имели подтвержденный хронический вирусный гепатит С. Антитретровирусную

Таблица 1. Особенности пациентов с ВИЧ, имеющих нарушения в системе кроветворения, при распределении их по стадиям

Table 1. Features of HIV patients with disorders in the hematopoietic system and their distribution by stages

Стадия ВИЧ HIV stage	Количество пациентов, абс. (%) Number of patients, abs. (%)	Мужчины/женщины, абс. (%) Men/Women, abs. (%)	Злоупотребляющие алкоголем/страдающие наркоманией, абс. (%) Alcohol abusers/Drug addicts, abs. (%)	Страдающие вирусным гепатитом С/ВИЧ без гепатита Viral hepatitis C/HIV without hepatitis, abs. (%)	Получающие АРВТ/не получающие терапию, абс. (%) ARVT users/Not receiving therapy, abs. (%)
2 стадия Stage 2	13 (11, 8%)	12 (92,3%)/1 (7,7%)	9 (69,2%)/11 (84,6%)	10 (76,9%)/3 (23,1%)	2 (15,4%)/11 (84,6%)
3 стадия Stage 3	7 (6,4%)	6 (85,7%)/1 (14,3%)	6 (85,7%)/7 (100%)	0 (0%)/7 (100%)	6 (85,7%)/1 (14,3%)
4 стадия Stage 4	90 (81,85%)	70 (77,8%)/20 (22,2%)	49 (54,4%)/66 (73,3%)	63 (70%)/27 (30%)	14 (15,6%)/76 (84,4%)

Таблица 2. Характер депрессии кроветворения у пациентов с различными стадиями ВИЧ

Table 2. The nature of hematopoietic depression in patients with different stages of HIV

Стадия ВИЧ HIV stage	Количество пациентов с односторостковой цитопенией, абс. (%) Number of patients with single germ cytopenia, abs. (%)	Количество пациентов с двухростковой цитопенией, абс. (%) Number of patients with double-growth cytopenia, abs. (%)	Уровень гемоглобина Hemoglobin level (Me; 25%; 75%)	Количество эритроцитов Number of erythrocytes (Me; 25%; 75%)	Количество лейкоцитов Number of leukocytes (Me; 25%; 75%)	Количество тромбоцитов Number of platelets (Me; 25%; 75%)
2 стадия Stage 2	6 (46,2%)	7 (53,8%)	99; 92; 119	3,45; 3,35; 4,0	11,0; 7,68; 26,9	113; 65; 145
3 стадия Stage 3	7 (100%)	0	117; 124; 147	4,98; 4,63; 5,2	5,92; 4,2; 15,07	165; 117; 196
4 стадия Stage 4	46 (51,1%)	44 (48,9%)	90; 81; 127	3,79; 3,15; 4,58	5,8; 3,5; 8,51	104; 82; 132

терапию (АРВТ) при поступлении в стационар получали 2 пациента со 2 стадией ВИЧ-инфекции, 6 пациентов с 3 стадией и 14 с 4 стадией. За время нахождения в стационаре АРВТ была назначена всем пациентам.

У всех пациентов наблюдалось угнетение хотя бы одного ростка кроветворения. У 6 пациентов со 2 стадией имелись односторостковые цитопении, у 7 — двухростковые. В гемограммах при поступлении в стационар медиана уровня эритроцитов была равна $3,45 \times 10^{12}/л$ (25% — $3,35 \times 10^{12}/л$, 75% — $4,0 \times 10^{12}/л$), медиана уровня гемоглобина — 99 г/л (25% — 92 г/л, 75% — 129 г/л), медиана количества лейкоцитов составила $11,0 \times 10^9/л$ (25% — $7,68 \times 10^9/л$, 75% — $26,9 \times 10^9/л$), медиана количества тромбоцитов — $113 \times 10^9/л$ (25% — $65 \times 10^9/л$, 75% — $145 \times 10^9/л$). При анализе полученных результатов можно сделать вывод о том, что у пациентов со 2 стадией ВИЧ-инфекции преобладают угнетения эритроидного и тромбоцитарного ростков, при этом тромбоцитопения достигала IV степени.

При 3 стадии ВИЧ-инфекции у всех 7 пациентов имелось угнетение только одного ростка. Так, медиана уровня гемоглобина составила 117 г/л (25% — 124 г/л, 75% — 147 г/л), медиана уровня эритроцитов — $4,98 \times 10^{12}/л$ (25% — $4,63 \times 10^{12}/л$, 75% — $5,2 \times 10^{12}/л$), медиана уровня лейкоцитов — $5,92 \times 10^9/л$ (25% — $4,2 \times 10^9/л$, 75% — $15,07 \times 10^9/л$), тромбоцитов — $165 \times 10^9/л$ (25% — $117 \times 10^9/л$, 75% — $196 \times 10^9/л$). У данной группы угнетения кроветворения имели более легкую степень во всех ростках кроветворения.

У 46 пациентов с 4 стадией имелись различные угнетения одного из ростков кроветворения, у 44 пациентов — двухлинейные цитопении. Медиана количества эритроцитов равна $3,79 \times 10^{12}/л$ (25% — $3,15 \times 10^{12}/л$, 75% — $4,58 \times 10^{12}/л$), лейкоцитов — $5,8 \times 10^9/л$ (25% — $3,5 \times$

$10^9/л$, 75% — $8,51 \times 10^9/л$), медиана уровня тромбоцитов $104 \times 10^9/л$ (25% — $82 \times 10^9/л$, 75% — $132 \times 10^9/л$). Для уровня гемоглобина медиана была равна 90 г/л (25% — 81 г/л, 75% — 127 г/л). Для пациентов с 4 стадией ВИЧ-инфекции характерно снижение в гемограмме количества всех клеточных элементов крови, эти нарушения имеют более тяжелый и стойкий характер.

Обсуждение

ВИЧ-ассоциированные нарушения кроветворения встречаются на различных стадиях заболевания и могут быть связаны не только с прогрессированием болезни, приемом лекарственных препаратов, но и с наличием сопутствующей патологии (хронический вирусный гепатит С), вредных привычек, с особенностями питания.

Выраженность цитопений (кроме тромбоцитопении) у пациентов, инфицированных ВИЧ, обычно ассоциируется с прогрессирующим течением заболевания [6].

ВИЧ-ассоциированная анемия как анемия хронического заболевания чаще всего является железодефицитной, но у пациентов, злоупотребляющих алкоголем, не менее частой причиной развития тяжелой анемии и цитопении может быть дефицит витамина В12.

Анемия — самая частая цитопения, наблюдаемая у ВИЧ-инфицированных пациентов. Она может сочетаться с другими цитопениями [6].

Снижение уровня гемоглобина у пациентов с ВИЧ-инфекцией изучалось в большом количестве клинических исследований. Установлено, что при снижении гемоглобина до уровня менее 100 г/л прослеживается прямая сильная корреляция со снижением уровня выживаемости данной группы пациентов. При анализе группы пациентов с гемоглобином менее 80 г/л и ВИЧ-

инфекцией выявлен самый высокий риск смерти. Это свидетельствует о высоком прогностическом значении анемии, в том числе у пациентов, получающих АРВТ [3, 4, 8].

При анализе пациентов, вошедших в наше исследование, анемия была выявлена на всех стадиях ВИЧ-инфекции, с преобладанием тяжелых форм у больных с 4 стадией. Также стоит отметить, что наличие анемии средней и тяжелой степени влияет на снижение уровня жизни пациентов значительно больше, чем снижение уровня лейкоцитов и тромбоцитов. Своевременная коррекция анемии (назначение заместительной терапии препаратами железа или витамина В12, назначение АРВТ) сможет улучшить качество жизни пациентов.

Снижение уровня лейкоцитов может быть частым следствием течения ВИЧ-инфекции и развивается у 75% пациентов с 4 стадией. Лейкопения редко бывает изолированной и наиболее часто выявляется у людей с терминальными стадиями ВИЧ-инфекции, тем самым неблагоприятно влияя на прогноз [3]. Снижение лейкоцитов не является специфичным, может проявляться поражением как лимфоидного, так и миелоидного ростков кроветворения [6, 7].

Снижение уровня лейкоцитов ухудшает прогноз ввиду высокого риска присоединения тяжелой бактериальной инфекции. Прогноз для жизни у пациентов при сочетании 4 стадии ВИЧ-инфекции и бактериальных осложнений крайне неблагоприятный. При анализе случаев лейкопении в гемограммах у пациентов изучаемой группы 4 стадия ВИЧ-инфекции определялась у подавляющего большинства.

Если сравнивать случаи выявления у пациентов анемии, лейкопении и тромбоцитопении, то последняя, вне зависимости от степени тяжести, может выявляться в развернутом анализе крови на начальных стадиях ВИЧ-инфекции и быть первым гематологическим проявлением заболевания. Снижение уровня тромбоцитов

может наблюдаться не только при прогрессировании ВИЧ-инфекции. Так, тромбоцитопения легкой и средней тяжести может выявляться у 3–8% пациентов на бессимптомной стадии ВИЧ-инфекции и у 30–45% пациентов с 4 стадией. В большинстве случаев после назначения АРВТ количество тромбоцитов и их функциональные качества восстанавливаются. Связь тромбоцитопении у пациентов с ВИЧ-инфекцией и сопутствующими вирусными патологиями, такими как хронические вирусные гепатиты В и С, выявлена многими авторами [4]. Нами было подтверждено наличие тромбоцитопении у пациентов во всех анализируемых группах, при этом тяжесть тромбоцитопении значительно варьировала независимо от стадии ВИЧ-инфекции. Хронический вирусный гепатит С, как правило, утяжеляет течение и затрудняет возможность коррекции тромбоцитопении.

Заключение

Таким образом, у пациентов с ВИЧ-инфекцией развиваются цитопении, этиология которых часто оказывается сочетанной, связанной не только с наличием ВИЧ-инфекции. Наиболее частым и ранним проявлением угнетения кроветворения является тромбоцитопения, что нашло подтверждение в нашем исследовании. У больных ВИЧ-инфекцией часто обнаруживается угнетение эритроидного ростка, проявляющееся в виде анемии, при этом снижение гемоглобина нарастает по мере степени выраженности иммунодефицита. Лейкопении являются наиболее редкими проявлениями цитопений у больных ВИЧ-инфекцией и преимущественно сопровождают поздние стадии заболевания. Своевременное выявление и коррекция угнетений кроветворения у пациентов с ВИЧ-инфекцией позволит улучшить их качество жизни и прогноз течения заболевания.

Список литературы/References

1. Бартлетт Дж., Галлант Дж., Фам П. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции. М.: Р. Валент, 2012. С. 189–211. [Bartlett J., Gallant J., Pham P. Clinical aspects of HIV infection. Moscow: R. Valent, 2012, pp. 189–211. (In Russ.)]
2. ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство / Под ред. В.В. Покровского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 608 с. [HIV infection and AIDS: national guidelines. Ed. by V.V. Pokrovskiy. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 608 p. (In Russ.)]
3. Канестри В.Г. Нарушение функционального состояния системы кроветворения у больных с ВИЧ-инфекцией // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2017. Т. 9, № 2. С. 7–15. [Kanestri V.G. Disorders of hemopoiesis in HIV patients. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2017, vol. 9, no. 2, pp. 7–15. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2017-9-2-7-15
4. Канестри В.Г., Кравченко А.В. Гематологические нарушения у больных ВИЧ-инфекцией, получающих антиретровирусную терапию // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2013. Т. 5, № 3. С. 63–70 [Kanestri V.G., Kravchenko A.V. Hematologic disorders in HIV patients receiving antiretroviral therapy. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2013, vol. 5, no. 3, pp. 63–70. (In Russ.)]
5. Dikshit B., Wanchu A., Sachdeva R.K., Sharma A., Das R. Profile of hematological abnormalities of Indian HIV infected individuals. *BMC Blood Disord.*, 2009, vol 9: 5. doi: 10.1186/1471-2326-9-5

6. Durandt C., Potgieter J.C., Mellet J., Herd C., Khoosal R., Nel J.G., Rossouw T., Pepper M.S. HIV and haematopoiesis. *S. Afr. Med. J.*, 2019, vol. 109, no. 8, pp. 41–46. doi: 10.7196/SAMJ.2019.v109i8b.13829
7. Harris R.J., Sterne J.A., Abgrall S. Prognostic importance of anaemia in HIV type-1-infected patients starting antiretroviral therapy: collaborative analysis of prospective cohort studies. *Antivir. Ther.*, 2008, vol. 13, no. 8, pp. 959–967.
8. Moses A.V., Williams S., Heneveld M.L. Human immunodeficiency virus infection of bone marrow endothelium reduces induction of stromal hematopoietic growth factors. *Blood*, 1996, vol. 87, no. 3, pp. 919–925. doi: 10.1182/blood.V87.3.919.bloodjournal873919

Авторы:

Барышникова Д.В., аспирант кафедры фтизиатрии, фтизиохирургии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Омск, Россия;

Мордык А.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фтизиатрии, фтизиохирургии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Омск, Россия;

Пузырева Л.В., к.м.н., доцент кафедры фтизиатрии, фтизиохирургии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Омск, Россия.

Authors:

Baryshnikova D.V., Postgraduate Student, Department of Phthisiology and Infectious Diseases, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation;

Mordyk A.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Phthisiology and Infectious Diseases, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation;

Puzyreva L.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Phthisiology and Infectious Diseases, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 06.12.2020
Отправлена на доработку 31.10.2021
Принята к печати 05.11.2021

Received 06.12.2020
Revision received 31.10.2021
Accepted 05.11.2021

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ АНТИМИКРОБНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ КРОВотоКА

А.С. Захватова^{1,2}, М.Г. Дарьина^{1,2}, Ю.С. Светличная^{1,2}, Л.П. Зуева¹, Б.И. Асланов¹,
М.А. Червякова¹

¹ ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

² СПб ГБУЗ Медицинский информационно-аналитический центр, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Микробиологический мониторинг является важнейшим компонентом эпидемиологической безопасности организации лечебно-диагностического процесса, неотъемлемой частью процесса обеспечения эпидемиологического наблюдения за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП), путем этиологической расшифровки, выявления госпитальных штаммов микроорганизмов и разработки стратегии и тактики борьбы с ними. В современных условиях развития здравоохранения и человечества в целом важнейшей проблемой является неуклонный рост числа инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), обусловленных нечувствительными к антимикробным препаратам (АМП) возбудителями, и снижение эффективности препаратов, используемых для их лечения. В условиях стационара структура инфекционных патологий, сопровождающих лечебно-диагностический процесс, специфична и определяется профилем и характером проводимого лечения, а также нозологией и возрастом пациентов. Микробиологический мониторинг играет важную роль для оценки и корректировки проводимой антимикробной терапии на основе организации своевременного и рационального взаимодействия лечащего врача и сотрудников бактериологической лаборатории. В этиологической структуре ИСМП к ведущим возбудителям относятся *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, а также *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium*. В настоящем исследовании оценены показатели распространенности в медицинских организациях Санкт-Петербурга потенциальных возбудителей инфекций кровотока, резистентных к АМП. Ретроспективно проанализированы данные о чувствительности к антимикробным препаратам штаммов шести клинически значимых возбудителей ИСМП, выявленных при исследовании крови пациентов 50 стационаров Санкт-Петербурга в 2016–2019 гг. Установлено, что применение β-лактамов антимикробных препаратов в настоящее время не эффективно при лечении больных с инфекциями кровотока, вызванными штаммами *S. aureus* (в 21,9% случаев), *E. coli* (в 2,1% случаев), *Klebsiella* spp. (в 39,6% случаев), *P. aeruginosa* (в 40,5% случаев), *Acinetobacter* spp. (в 66,7% случаев), *Enterococcus* spp. (в 4,4% случаев). Показано, что целенаправленный мониторинг инфекционных процессов, протекающих на фоне полирезистентности их возбудителей, следует рассматривать как эффективный организационный механизм своевременного выявления и профилактики осложнений, наблюдаемых в клинической практике, при оказании медицинской помощи пациентам, подверженным высокому риску развития инфекций кровотока. Выявление особенно-

Адрес для переписки:

Захватова Анастасия Сергеевна
198095, Россия, Санкт-Петербург, ул. Шкапина, 30,
СПб ГБУЗ Медицинский информационно-аналитический центр.
Тел.: 8 904 559-52-47.
E-mail: AZahvatova@spbmiac.ru

Contacts:

Anastasia S. Zakhvatova
198095, Russian Federation, St. Petersburg, Shkapina str., 30,
St. Petersburg Medical Information and Analytical Center.
Phone: +7 904 559-52-47.
E-mail: AZahvatova@spbmiac.ru

Для цитирования:

Захватова А.С., Дарьина М.Г., Светличная Ю.С., Зуева Л.П., Асланов Б.И., Червякова М.А. Микробиологический мониторинг антимикробной резистентности потенциальных возбудителей инфекций кровотока // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 185–192. doi: 10.15789/2220-7619-ARM-1552

Citation:

Zakhvatova A.S., Daryina M.G., Svetlichnaya Y.S., Zueva L.P., Aslanov B.I., Chervyakova M.A. Antimicrobial resistance monitoring of potential pathogens causing bloodstream infections // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet. 2022, vol. 12, no. 1. С. 185–192. doi: 10.15789/2220-7619-ARM-1552

стей эпидемического процесса гнойно-септических инфекций с учетом фенотипа резистентности возбудителя в медицинских организациях позволяет определять пути совершенствования мер их профилактики для повышения качества оказываемой медицинской помощи. Очевидно, что данные микробиологического мониторинга также необходимы для разработки и проведения мероприятий по сдерживанию дальнейшего роста антимикробной резистентности возбудителей инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: антимикробная резистентность микроорганизмов, возбудители инфекций кровотока, эпидемиологическая безопасность, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, полирезистентность возбудителей, антимикробная терапия.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE MONITORING OF POTENTIAL PATHOGENS CAUSING BLOODSTREAM INFECTIONS

Zakhvatova A.S.^{a,b}, Daryina M.G.^{a,b}, Svetlichnaya Y.S.^{a,b}, Zueva L.P.^a, Aslanov B.I.^a, Chervyakova M.A.^a

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

^b St. Petersburg Medical Information and Analytical Center, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Microbiological monitoring, being an integral component of epidemiological surveillance of healthcare associated infection (HAI), is one of the most important components in hospital patient safety. The purpose of monitoring is the etiological interpretation of pathogens, the identification of microbial hospital strains and development of strategies as well as tactics for combating them. In modern conditions development of healthcare and humanity as a whole, the most important problem is the steady increase in the number of HAI caused by antimicrobial drug-insensitive pathogens and decreased drug effectiveness used in therapy. The structure of infectious conditions in the hospital is specific and is determined by the profile and nature of the treatment, nosology and age of patients. The main pathogens in the etiological structure of HAI are *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. The study estimated the prevalence of bloodstream infections pathogens resistant to antimicrobial agents in healthcare facilities in St. Petersburg. We retrospectively analyzed data on the antimicrobial resistance for the six clinically significant HAI pathogens that were detected in the blood samples at the 50 hospitals of St. Petersburg during the years 2016–2019. It was found that the use of β -lactam antibiotics is not effective in the treatment of patients with bloodstream infections (BSI) caused by *S. aureus* (in 21.9% of BSI cases), *E. coli* (2.1%), *Klebsiella* spp. (39.6%), *P. aeruginosa* (40.5%), *Acinetobacter* spp. (66.7%), *Enterococcus* spp. (4.4%). This article shows that targeted microbiological monitoring of HAI caused by resistant pathogens should be considered as an effective organizational mechanism for timely detection and prevention of complications that are observed in medical care to patients at high risk for bloodstream infections. Identification of the features of the epidemic process for purulent-septic infections in medical organizations contributes to the improved preventive measures in order to improve the quality of medical care. Microbiological monitoring data are necessary for the development and implementation of measures to curb the further growth of antimicrobial resistance of infectious disease pathogens.

Key words: antimicrobial resistance of microorganisms, pathogens of bloodstream infections, epidemiological safety of medical activity, healthcare-associated infections, polyresistance of pathogens, antimicrobial therapy.

Введение

На современном этапе развития здравоохранения отмечается неуклонный рост числа инфекционных осложнений, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) и обусловленных условно-патогенными микроорганизмами, нечувствительными к антимикробным препаратам (АМП) [1]. Это значительно затрудняет прогнозирование результатов оказания медицинской помощи больным с патологией инфекционного генеза, так как при выделении резистентных штаммов эффективность лечения оказывается мало предсказуемой [2, 3]. Поэтому исследования, направленные на изучение распространения антимикробной резистентности в медицинских организациях, представляют особый интерес, а в связи с многократным ро-

стом использования высокоинвазивных лечебно-диагностических процедур актуальность подобного исследования увеличивается в разы.

В системе надзора и контроля за антибиотиками и резистентностью микробов в странах Евросоюза (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network — EARS-Net) к индикаторным (в плане формирования антимикробной резистентности) отнесены шесть видов клинически значимых микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp. [6]. Самыми «проблемными» с позиции антибиотикорезистентности микробами в настоящее время считаются метициллин-резистентные штаммы *S. aureus* (MRSA), *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и *Acinetobacter* spp., устойчивые к АМП группы карбапенемов,

Таблица 1. Выделение *S. aureus* из крови пациентов МО СПб в 2016–2019 гг.Table 1. *S. aureus* isolates from blood samples in St. Petersburg hospitals in 2016–2019

Годы Years	Общее количество выделенных штаммов <i>S. aureus</i> /из них MRSA (%) Total <i>S. aureus</i> isolates/MRSA (%)			
	всего/из них MRSA total/MRSA	подразделения/hospital departments		
		ОРИТ/ICU	хирургические/surgery	другие/other
2016	226/89 (39,4)	114/48 (42,1)	35/15 (42,9)	77/26 (33,8)
2017	402/169 (42,0)	216/99 (45,8)	59/19 (32,2)	127/51 (39,8)
2018	602/205 (34,1)	362/117 (32,3)	59/25 (42,4)	181/63 (34,8)
2019	805/306 (38,0)	543/195 (35,9)	84/29 (34,5)	178/82 (46,1)
Всего Total	2035/769 (37,8)	1235/459 (37,2)	237/88 (37,1)	563/222 (39,4)

и *Enterococcus* spp., резистентные к ванкомицину (VRE). Устойчивость штаммов этих микроорганизмов к β -лактамам, а также их резистентность к антибактериальным средствам других групп позволяет предполагать неэффективность проводимой антимикробной терапии [4, 5].

Материалы и методы

Ретроспективно проанализированы данные о чувствительности к АМП штаммов микроорганизмов (*S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp.), выделенных при исследовании крови пациентов 50 медицинских организаций стационарного типа Санкт-Петербурга (МО СПб) в 2016–2019 гг. Результаты бактериологических исследований пациентов с высоким риском развития инфекций кровотока представлены многопрофильными стационарами для взрослых (29 учреждений) и детей (8 МО), 8 учреждениями родовспоможения и 5 стационарами для лечения больных социально значимыми заболеваниями (туберкулезом, кожно-венерологическими заболеваниями и психическими расстройствами).

Результаты и обсуждение

*Характеристика резистентности к АМП штаммов *S. aureus*.* За наблюдаемый период с 2016 по 2019 гг. при бактериологическом исследовании биологического материала пациентов стационаров Санкт-Петербурга выделены 53 739 штаммов *S. aureus*, в том числе из крови — 2035 (3,8%) изолятов данного микроорганизма. Удельный вес MRSA от общего количества выделенных за анализируемый период штаммов *S. aureus* составил 20,8%, в том числе из крови — 37,8%.

Обобщенные сведения о выделении штаммов MRSA из крови пациентов отдельных подразделений стационаров Санкт-Петербурга в 2016–2019 гг. представлены в табл. 1.

Данные о выделении MRSA из крови пациентов с учетом типов стационаров Санкт-

Петербурга за 2016–2019 гг. представлены на рис. 1. Данные о выделении MRSA, представленные учреждениями родовспоможения и специализированными стационарами за исследуемый период, не отражают реальной картины в связи с незначительным количеством выделенных в этих стационарах штаммов *S. aureus*.

*Характеристика резистентности к АМП штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae*.* В 2016–2019 гг. в Санкт-Петербурге из проб биологического материала пациентов стационаров выделены 47 320 штаммов *E. coli* и 49 730 штаммов *K. pneumoniae*, в том числе из крови — 1269 (2,7%) и 4041 (8,5%) изолятов соответственно. За наблюдаемый период удельный вес резистентных к карбапенемам штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae* составил, соответственно, 2,3 и 32,5% от общего числа штаммов этих микроорганизмов. Среди штаммов, выделенных из крови, доля устойчивых штаммов составила 3,5% (*E. coli* — 44 шт.) и 44,6% (*K. pneumoniae* — 1801 шт.) соответственно.

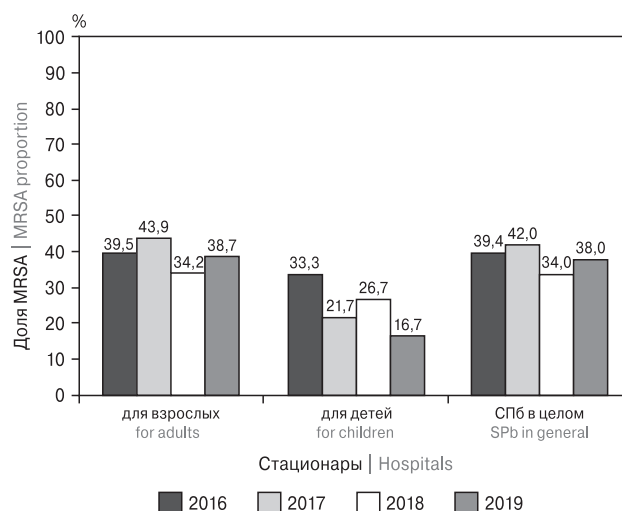


Рисунок 1. Доля MRSA от общего количества штаммов *S. aureus*, выделенных в 2016–2019 гг. в различных типах стационаров

Figure 1. Proportion of MRSA strains among *S. aureus* isolates in different types of hospitals in 2016–2019

Данные о выделении из крови пациентов ОРИТ и хирургических отделений штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae*, резистентных к карбапенемам, по сравнению с другими подразделениями стационаров Санкт-Петербурга в 2016–2019 гг., представлены в табл. 2 и 3.

Сведения о выделении штаммов с учетом типов стационаров за 2016–2019 г. представлены на рис. 2 и 3. Данные о выделении штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae*, резистентных к карбапе-

немам, в учреждениях родовспоможения за наблюдаемый период отсутствуют.

Характеристика резистентности к АМП штаммов P. aeruginosa и A. baumannii. За наблюдаемый период из проб биологического материала пациентов стационаров Санкт-Петербурга выделены 14 455 штаммов *P. aeruginosa* и 14 524 штамма *A. baumannii* (в том числе из крови пациентов — 590 (4,1%) и 1289 (8,9%) соответственно). Удельный вес штаммов *P. aeruginosa*

Таблица 2. Выделение *E. coli* из крови пациентов МО СПб в 2016–2019 гг.

Table 2. *E. coli* isolates obtained from blood samples in St. Petersburg hospitals in 2016–2019

Годы Years	Общее количество штаммов <i>E. coli</i> /из них резистентные к карбапенемам (%) Total <i>E. coli</i> isolates/carbapenem resistant strains (%)			
	всего/резистентные к карбапенемам total/carbapenem resistant	подразделения/hospital departments		
		ОРИТ/ICU	хирургические/surgery	другие/other
2016	197/3 (1,5)	103/1 (1,0)	17/0 (-)	77/2 (2,6)
2017	251/10 (4,0)	160/10 (6,3)	19/0 (-)	72/0 (-)
2018	352/9 (2,6)	216/8 (3,7)	50/0 (-)	86/1 (1,2)
2019	469/22 (4,7)	296/18 (6,1)	50/2 (4,0)	123/2 (1,6)
Всего Total	1269/44 (3,5)	775/37 (4,8)	136/2 (1,5)	358/5 (1,4)

Таблица 3. Выделение *K. pneumoniae* из крови пациентов МО СПб в 2016–2019 гг.

Table 3. *K. pneumoniae* isolates obtained from blood samples in St. Petersburg hospitals in 2016–2019

Годы Years	Общее количество штаммов <i>K. pneumoniae</i> /из них резистентные к карбапенемам (%) Total <i>K. pneumoniae</i> isolates/carbapenem resistant strains (%)			
	всего/резистентные к карбапенемам total/carbapenem resistant	подразделения/hospital departments		
		ОРИТ/ICU	хирургические/surgery	другие/other
2016	466/124 (26,6)	327	32/12 (35,3)	107/27 (25,7)
2017	859/344 (40,0)	620/255 (41,1)	57/22 (38,6)	182/67 (36,8)
2018	1282/585 (45,6)	949/445 (46,9)	79/31 (39,2)	254/109 (42,9)
2019	1434/748 (52,2)	1115/580 (52,0)	66/22 (33,3)	253/146 (57,7)
Всего Total	4041/1801 (44,6)	3011/1365 (45,3)	234/87 (37,2)	796/349 (43,8)

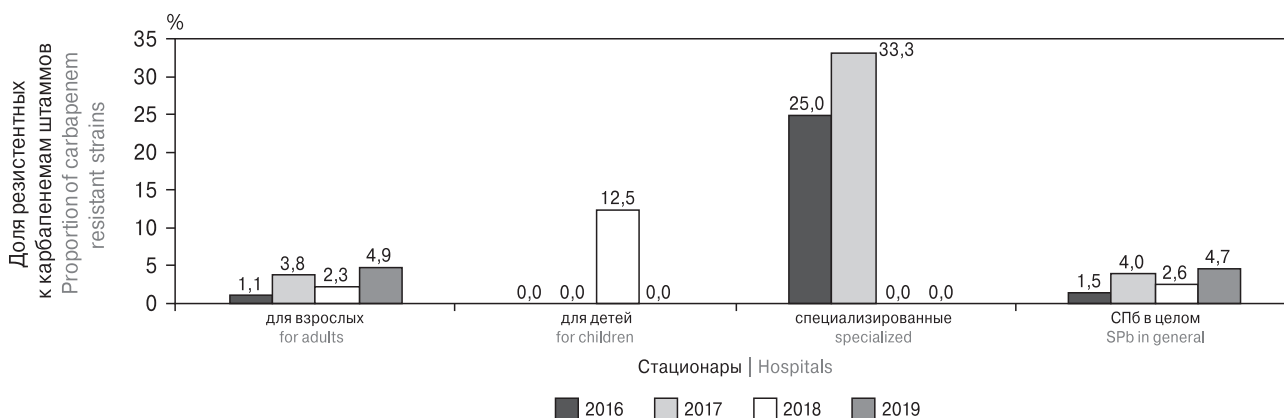


Рисунок 2. Доля резистентных к карбапенемам штаммов от общего количества штаммов *E. coli*, выделенных в 2016–2019 гг. в различных типах стационаров

Figure 2. Proportion of carbapenem resistant strains among *E. coli* isolates in different types of hospitals in 2016–2019

и *A. baumannii*, резистентных к меропенему (вследствие продукции металло- β -лактамаз) и потенциально устойчивых ко многим другим АМП (в частности, антипсевдомонадным пенициллинам и цефалоспорином), составил 40,2 и 64,1% от общего числа штаммов, среди них из крови больных выделено 59,5% (351 штамм) и 75,2% (969 штаммов) соответственно.

Динамика выделения штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, резистентных к карбапенемам

(меропенему и имипенему), из крови пациентов ОРИТ и хирургических отделений (по сравнению с другими подразделениями) стационаров Санкт-Петербурга в 2016–2019 гг. представлена в табл. 4 и 5.

В 2016–2019 гг. в многопрофильных стационарах для взрослых и детей отмечалась активная циркуляция штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, резистентных к карбапенемам (меропенему и имипенему). Динамика выделе-

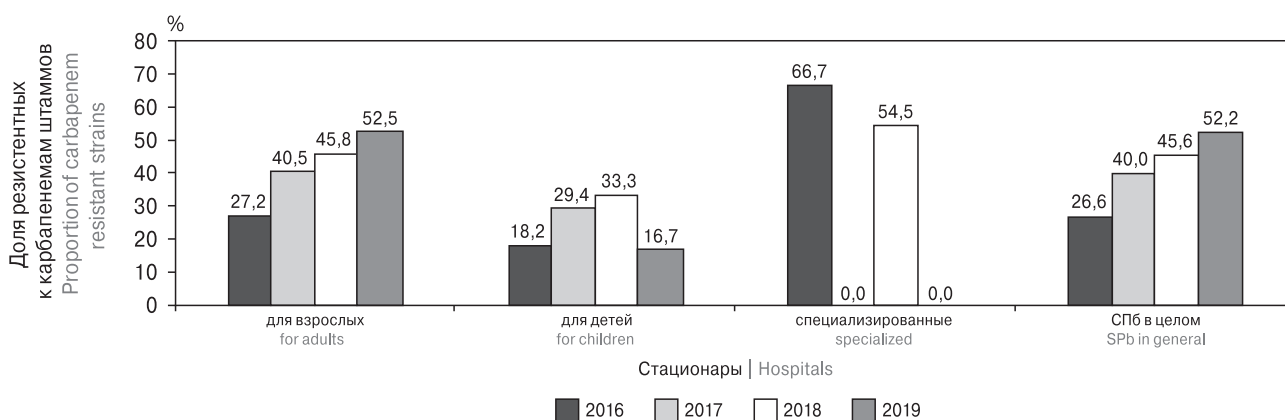


Рисунок 3. Доля резистентных к карбапенемам штаммов от общего количества штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в 2016–2019 гг. в различных типах стационаров

Figure 3. Proportion of carbapenem resistant strains among *K. pneumoniae* isolates in different types of hospitals in 2016–2019

Таблица 4. Выделение *P. aeruginosa* из крови пациентов МО СПб в 2016–2019 гг.

Table 4. *P. aeruginosa* isolates obtained from blood samples in St. Petersburg hospitals in 2016–2019

Годы Years	Общее количество штаммов <i>P. aeruginosa</i> /из них резистентные к карбапенемам (%) Total <i>P. aeruginosa</i> isolates/carbapenem resistant strains (%)			
	всего/резистентные к карбапенемам total/carbapenem resistant	подразделения/hospital departments		
		ОРИТ/ICU	хирургические/surgery	другие/other
2016	45/26 (57,8)	30/18 (60,0)	3/3 (100)	12/5 (41,7)
2017	160/82 (51,3)	123/74 (60,2)	8/1 (12,5)	29/7 (24,1)
2018	162/95 (58,6)	135/80 (59,3)	5/4 (80,0)	22/11 (50,0)
2019	223/148 (66,4)	197/139 (70,6)	6/1 (16,7)	20/8 (40,0)
Всего Total	590/351 (59,5)	485/311 (64,1)	22/9 (40,9)	83/31 (37,3)

Таблица 5. Выделение *A. baumannii* из крови пациентов МО СПб в 2016–2019 гг.

Table 5. *A. baumannii* isolates obtained from blood samples in St. Petersburg hospitals in 2016–2019

Годы Years	Общее количество штаммов <i>A. baumannii</i> /из них резистентные к карбапенемам (%) Total <i>A. baumannii</i> isolates/carbapenem resistant strains (%)			
	всего/резистентные к карбапенемам total/carbapenem resistant	подразделения/hospital departments		
		ОРИТ/ICU	хирургические/surgery	другие/other
2016	146/101 (69,2)	103/74 (71,8)	11/7 (63,6)	32/20 (62,5)
2017	306/230 (75,2)	251/195 (77,7)	12/7 (58,3)	43/28 (65,1)
2018	325/244 (75,1)	286/219 (76,6)	18/17 (94,4)	21/8 (38,1)
2019	512/394 (77,0)	440/351 (79,8)	18/13 (72,2)	54/30 (55,6)
Всего Total	1289/969 (75,2)	1080/839 (77,7)	59/44 (74,6)	150/86 (57,3)

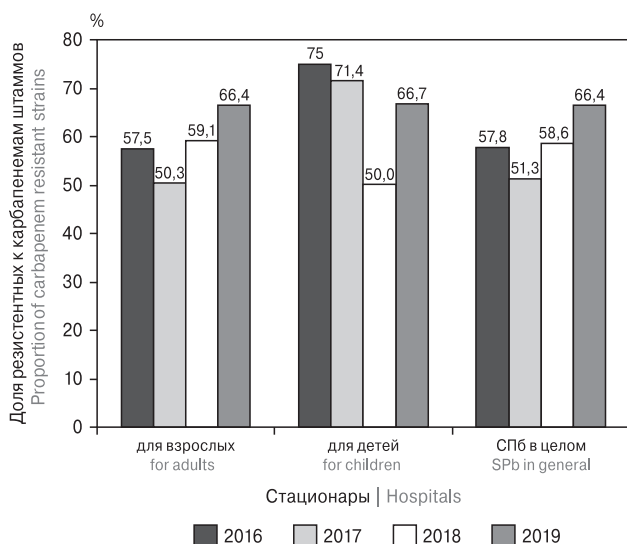


Рисунок 4. Доля резистентных к карбапенемам штаммов от общего количества штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в 2016–2019 гг. в различных типах стационаров

Figure 4. Proportion of carbapenem resistant strains among *P. aeruginosa* isolates in different types of hospitals in 2016–2019

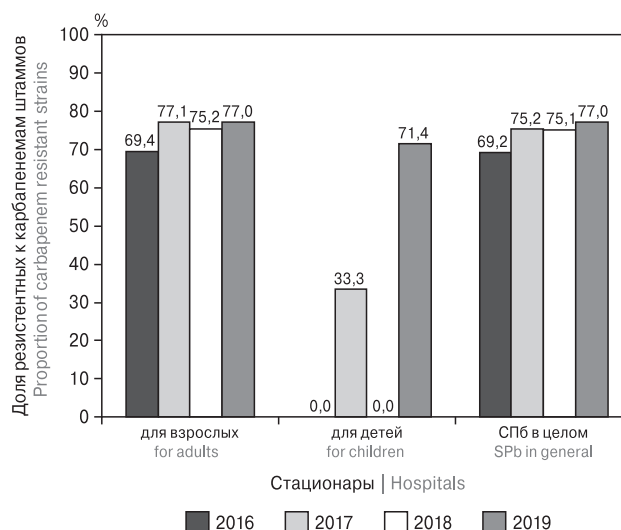


Рисунок 5. Доля резистентных к карбапенемам штаммов от общего количества штаммов *A. baumannii*, выделенных в 2016–2019 гг. в различных типах стационаров

Figure 5. Proportion of carbapenem resistant strains among *A. baumannii* isolates in different types of hospitals in 2016–2019

ния из крови пациентов таких штаммов с учетом типа стационаров Санкт-Петербурга представлена на рис. 4 и 5.

Характеристика резистентности к АМП штаммов *Enterococcus* spp. За исследуемый период из проб биологического материала пациентов Санкт-Петербурга выделены 32 062 штамма *Enterococcus* spp., в том числе из крови — 1712 (5,3%). На долю штаммов группы *Enterococcus* spp., резистентных к ванкомицину и устойчивых к большей части имеющихся в клинической практике АМП, пришлось 5,1% от общего числа (из крови — 12,7%, 218 штаммов).

Динамика выделения *Enterococcus* spp., резистентных к ванкомицину, из крови пациентов ОРИТ и хирургических отделений по сравнению с другими подразделениями стационаров Санкт-Петербурга в 2016–2019 гг. представлена в табл. 6.

Динамика выделения из крови пациентов штаммов *Enterococcus* spp., резистентных к ванкомицину, в 2016–2019 гг. в различных типах стационаров Санкт-Петербурга представлена на рис. 6. За этот период данные о выделении таких штаммов в учреждениях родовспоможения и специализированных стационарах отсутствуют.

Данные проведенного исследования позволяют считать, что микробиологический мониторинг, организуемый на уровнях МО и региона в целом, должен быть обязательным компонентом в системе инфекционного контроля и безопасности медицинской деятельности. Сведения, получаемые в ходе микробиологического мониторинга, являются индикаторной основой для выбора и включения АМП в схемы лечебного процесса. Очевидно,

Таблица 6. Выделение *Enterococcus* spp. из крови пациентов МО СПб в 2016–2019 гг.

Table 6. *Enterococcus* spp. isolates obtained from blood samples in St. Petersburg hospitals in 2016–2019

Годы Years	Общее количество штаммов <i>Enterococcus</i> spp./из них резистентные к ванкомицину (%) Total <i>Enterococcus</i> spp. isolates/vancomycin resistant strains (%)			
	всего/резистентные к ванкомицину total/vancomycin resistant	подразделения/hospital departments		
		ОРИТ/ICU	хирургические/surgery	другие/other
2016	324/46 (14,2)	187/35 (18,7)	45/1 (2,2)	92/10 (10,4)
2017	340/47 (13,8)	225/40 (17,9)	29/3 (10,3)	86/4 (4,7)
2018	478/61 (12,8)	300/38 (12,7)	59/12 (20,3)	119/11 (9,2)
2019	570/64 (11,2)	356/39 (11,0)	51/5 (9,8)	163/20 (12,3)
Всего Total	1712/218 (12,7)	1068/152 (14,2)	184/21 (11,4)	460/45 (9,8)

что β-лактамы АМП постепенно утрачивают свою эффективность в лечении больных с инфекциями, обусловленными клинически значимыми микроорганизмами, среди которых высокий удельный вес резистентных штаммов наблюдается у *S. aureus* — 21,9%, *E. coli* — 2,1%, *K. pneumoniae* — 39,6%, *P. aeruginosa* — 40,5%, *A. baumannii* — 66,7%. При целенаправленном проведении микробиологического мониторинга возбудителей инфекционных заболеваний в стационарах возможно не только получить достоверную информацию о распространенности микроорганизмов, резистентных к АМП, но и своевременно учитывать ее при назначении антимикробной терапии. Данные сведения также необходимы для проведения мероприятий по сдерживанию роста антимикробной резистентности возбудителей инфекционных заболеваний.

Заключение

Рациональная антимикробная терапия может осуществляться при своевременном и гарантированном получении информации о чувствительности микроорганизмов к АМП. Распространение в медицинских организациях устойчивых к АМП микроорганизмов существенно снижает эффективность антибактериальной терапии и сопряжено с угрозой распространения эпидемически значимых штаммов в широких масштабах. Несомненно, всестороннее целенаправленное наблюдение за устойчивостью возбудителей инфекций к АМП представляет собой один из эффективных путей к профилактике антибиотикорезистентности.

С 2008 г. в Санкт-Петербурге проводится работа по обеспечению городской системы слежения за распространенностью потенциальных

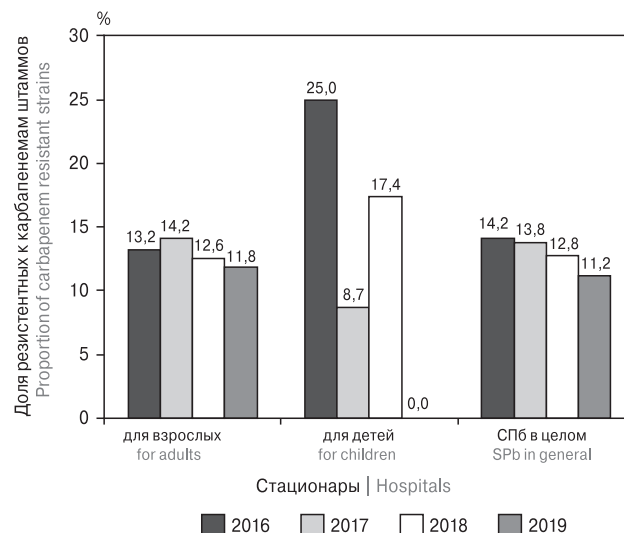


Рисунок 6. Доля резистентных к ванкомицину штаммов от общего количества штаммов *Enterococcus* spp., выделенных в 2016–2019 гг. в различных типах стационаров

Figure 6. Proportion of vancomycin resistant strains among *Enterococcus* spp. isolates in different types of hospitals in 2016–2019

возбудителей ИСМП, резистентных к АМП. С 2018 г. результаты микробиологического мониторинга чувствительности к АМП клинически значимых микроорганизмов (*S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp.) отображаются в информационно-аналитическом модуле (ИАМ) региональной медицинской информационной системы (РМИС) и доступны специалистам разных уровней для обеспечения эффективного эпидемиологического надзора и реализации программ по сдерживанию роста антимикробной резистентности.

Список литературы/References

1. Агеев В.А., Лазарева И.В., Сидоренко С.В. Проблема устойчивости к карбапенемным антибиотикам: распространение карбапенемаз в мире и России, эпидемиология, диагностика, возможности лечения // Фарматека. 2015. № 14. С. 9–16. [Ageevets V.A., Lazareva I.V., Sidorenko S.V. Problem of resistance to carbapenem antibiotics: the spread of carbapenemases in the world and Russia, epidemiology, diagnosis, treatment options. *Farmateka*, 2015, no. 14, pp. 9–16. (In Russ.)]
2. Гомон Ю.М., Светличная Ю.С., Колбин А.С., Сидоренко С.В., Дарьина М.Г., Зуева Л.П., Курьлев А.А., Иванов И.Г., Стрижелецкий В.В. Бремя резистентности бактериальных инфекций, вызванных резистентными штаммами *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* в России // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2018. Т. 20, № 4. С. 310–318. [Gomon Yu.M., Svetlichnaya Yu.S., Kolbin A.S., Sidorenko S.V., Daryina M.G., Zueva L.P., Kurylyov A.A., Ivanov I.G., Strizheletskiy V.V. Burden of resistant infections caused by *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* in Russian Federation. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2018, vol. 20, no. 4, pp. 310–318. (In Russ.)]
3. Захарова Ю.А., Сидоренко С.В., Федотова О.С. Внутривидовое типирование госпитальных штаммов *Acinetobacter baumannii* с множественной лекарственной устойчивостью // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2018. Т. 20, № 1. С. 22–23. [Zakharova Yu.A., Sidorenko S.V., Fedotova O.S. Intraspecific typing of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* hospital strains. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2018, vol. 20, no. 1, pp. 22–23. (In Russ.)]
4. Bradford P.A., Kazmierczak K.M., Wise M.G., Biedenbach D.J., Hackel M., Sahn D.F. Correlation of β-lactamase production and colistin resistance among Enterobacteriaceae isolates from a Global Surveillance Program. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2016, vol. 60, no. 3, pp. 1385–1392. doi: 10.1128/AAC.01870-15

5. Morill H.J., Pogue J.M., Kaye K.S., LaPlante K.L. Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Open Forum Infect. Dis.*, 2015, vol. 2, no. 2: ofv050. doi: 10.1093/ofid/ofv050
6. Sacha P., Michalska A., Ojdana D., Wieczorek P., Hauschild T., Majewski P., Tryniszewska E. Identification of plasmid OXA and other β -lactamase genes among carbapenem-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from the Clinical University Hospital in northeastern Poland. *New Microbiol.*, 2015, vol. 38, no. 2, pp. 271–275.

Авторы:

Захватова А.С., аспирант кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; врач-методист сектора госпитальной эпидемиологии городского координационного организационно-методического отдела СПб ГБУЗ Медицинский информационно-аналитический центр, Санкт-Петербург, Россия;

Дарьина М.Г., к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; зав. городским координационным организационно-методическим отделом СПб ГБУЗ Медицинский информационно-аналитический центр, Санкт-Петербург, Россия;

Светличная Ю.С., к.м.н., ассистент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; начальник сектора госпитальной эпидемиологии отдела организационно-методического сопровождения и мониторинга медицинской деятельности СПб ГБУЗ Медицинский информационно-аналитический центр, Санкт-Петербург, Россия;

Зуева Л.П., д.м.н., профессор, зав. кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Асланов Б.И., д.м.н., доцент, профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Червякова М.А., аспирант кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Zakhvatova A.S., Postgraduate Student, Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation; Physician-Methodist of the Hospital Epidemiology Section of the City Coordination Organisational and Methodological Department, St. Petersburg Medical Information and Analytical Center, St. Petersburg, Russian Federation;

Daryina M.G., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the City Coordination Organisational and Methodological Department, St. Petersburg Medical Information and Analytical Center, St. Petersburg, Russian Federation;

Svetlichnaya Y.S., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Hospital Epidemiology Section of the City Coordination Organisational and Methodological Department, St. Petersburg Medical Information and Analytical Center, St. Petersburg, Russian Federation;

Zueva L.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Aslanov B.I., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Chervyakova M.A., Postgraduate Student, Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА ГИДРОХЛОРИДА ПО ОТНОШЕНИЮ К МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНЫМ ШТАММАМ МИКРООРГАНИЗМОВ

О.С. Очиров¹, Е.Г. Бурасова², С.А. Стельмах¹, М.Н. Григорьева¹,
В.О. Окладникова¹, Д.М. Могнонов¹

¹ ФГБУН Байкальский институт природопользования Сибирского отделения РАН, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия

² Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия

Резюме. Одной из актуальных проблем здравоохранения является устойчивость бактерий к применяемым дезинфицирующим средствам, способствующая формированию и распространению резистентных штаммов. Такая устойчивость резко снижает эффективность проводимых противоэпидемических мероприятий и способствует поддержанию высокого уровня заболеваемости. В условиях роста заболеваемости ИСМП, их полиэтиологичности, большого адаптационного потенциала условно-патогенных микроорганизмов, нарастания устойчивости к антимикробным препаратам назрела необходимость разработки новых или модификации существующих веществ растительного или синтетического происхождения, обладающих антимикробным действием и используемых в качестве антимикробных агентов. К представителям такого класса соединений относятся полигуанидины, которые характеризуются высокой антимикробной активностью и низкой токсичностью. Благодаря высокой реакционной способности гуанидиновой группировки, а также простоте синтеза и относительной доступности сырья методом поликонденсации в расплаве были получены N-фенил- и N-октилзамещенные производные полигексаметиленгуанидина гидрохлорида, определены их молекулярно-массовые характеристики, методом ИК-спектроскопии исследовано строение. Ранее проведенное исследование острой токсичности производных полигексаметиленгуанидина гидрохлорида после однократного поступления препаратов в организм лабораторных животных (белых мышей) пероральным путем позволило установить следующие значения LD₅₀: полигексаметиленгуанидина гидрохлорид — 850,0±112,02 мг/кг; N-фенилзамещенный полигексаметиленгуанидина гидрохлорид — 1399,9±120,51 мг/кг; N-октилзамещенный полигексаметиленгуанидина гидрохлорид — 1150,0±137,40 мг/кг. Полученные значения позволяют отнести синтезированные производные к четвертому классу опасности и открывают возможность их применения в качестве активных компонентов дезинфицирующих средств. Оценка антибактериальных свойств образцов проводили методом серийных разведений в агаре на госпитальных штаммах бактерий и грибов, выде-

Адрес для переписки:

Очиров Олег Сергеевич
670047, Россия, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ,
ул. Сахьяновой, 6, ФГБУН Байкальский институт
природопользования Сибирского отделения РАН.
Тел.: 8 983 531-42-42.
E-mail: ochirov.o.s@yandex.ru

Contacts:

Oleg S. Ochirov
670047, Russian Federation, Republic of Buryatia,
Ulan-Ude, Sakhyanova str., 6, Baikal Institute of Nature Management
of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.
Phone: +7 983 531-42-42.
E-mail: ochirov.o.s@yandex.ru

Для цитирования:

Очиров О.С., Бурасова Е.Г., Стельмах С.А., Григорьева М.Н.,
Окладникова В.О., Могнонов Д.М. Антимикробная активность
производных полигексаметиленгуанидина гидрохлорида
по отношению к мультирезистентным штаммам микроорганизмов //
Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 193–196. doi: 10.15789/2220-
7619-AAO-1751

Citation:

Ochirov O.S., Burasova E.G., Stelmakh S.A., Grigor'eva M.N.,
Okladnikova V.O., Mogonov D.M. Antimicrobial activity
of polyhexamethylene guanidine hydrochloride derivatives against multi-
resistant microbial strains // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 193–196. doi: 10.15789/2220-
7619-AAO-1751

Исследование выполнено при финансовой поддержке гос. задания Байкальского института природопользования СО РАН № 0273-2021-0007.

The study was financially supported by the state assignment of the Baikal Institute of Nature Management SB RAS.

ленных из биоматериала пациентов Республиканской клинической больницы им. Н.А. Семашко, согласно клиническим рекомендациям «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний» 2014 г., «Бактериологический анализ мочи» 2014 г., «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» 2015 г. Установлено, что N-замещенные производные проявляют большее антимикробное действие, чем вещества с незамещенным полимером. Наиболее чувствительными ко всем представленным препаратам являются дрожжеподобные грибы *Candida albicans* (№ 2495) (полное угнетение), а также метициллин-резистентный *S. aureus* (№ 2544), причем замещенные образцы практически полностью подавляют его рост. Наиболее устойчивыми штаммами являются *P. aeruginosa* (№ 2281), *A. baumannii* (№ 2806) и *K. pneumoniae* (№ 3023), процент редукции этих бактерий при действии замещенных образцов не превышает 41%, что объясняется их мультирезистентностью.

Ключевые слова: полигуанидины, поликонденсация, дезинфицирующие средства, антимикробное действие, резистентные штаммы.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF POLYHEXAMETHYLENE GUANIDINE HYDROCHLORIDE DERIVATIVES AGAINST MULTI-RESISTANT MICROBIAL STRAINS

Ochirov O.S.^a, Burasova E.G.^b, Stelmakh S.A.^a, Grigor'eva M.N.^a, Okladnikova V.O.^a, Mognonov D.M.^a

^a Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Ude, The Republic of Buryatia, Russian Federation

^b Republican Clinical Hospital named after N.A. Semashko, Ulan-Ude, The Republic of Buryatia, Russian Federation

Abstract. The resistance of bacteria to the disinfectants used is one of the pressing health problems requiring to be addressed in order to prevent formation and spread of resistant strains. Bacterial resistance leads to a sharply decreased effectiveness of anti-epidemic measures and contributes to maintaining a high morbidity level. In the context of the growing HAI incidence rate and related polyetiology, the large adaptive potential of opportunistic microorganisms, and the growing resistance to antimicrobial drugs, it is necessary to search for new or modify the corresponding substances of plant or synthetic origin exerting antimicrobial action used as antimicrobial agents. One of the representatives of this class of compounds are polyguanidines, characterized by high antimicrobial activity and low toxicity. Due to the high reactivity of the guanidine group, as well as ease of synthesis and relative availability of raw materials, N-phenyl- and N-octyl-substituted derivatives of polyhexamethylene guanidine hydrochloride were able to be obtained by melt polycondensation, their molecular weight characteristics were measured as well as the structure investigated by IR spectroscopy. An earlier study on the acute toxicity for polyhexamethylene guanidine hydrochloride derivatives after a single oral intake in laboratory animals (white mice) allowed to establish the following LD₅₀ values: polyhexamethylene guanidine hydrochloride — 850.0±112.02 mg/kg; N-phenyl-substituted polyhexamethylene guanidine hydrochloride — 1399.9±120.51 mg/kg; N-octyl-substituted polyhexamethylene guanidine hydrochloride — 1150.0±137.40 mg/kg. Such values, according to the tabulation of hazard classes, allow the synthesized derivatives to be classified into the fourth hazard class and open up an opportunity for using disinfectants as active components. The evaluation of the antibacterial sample properties was carried out by using serial dilutions in agar on hospital bacterial and fungal strains isolated from the biomaterial of patients at the Republican Clinical Hospital named after V.I. Semashko, according to the clinical guidelines “Laboratory diagnosis of community-acquired pneumonia” 2014, “Bacteriological analysis of urine” 2014, “Determination of the susceptibility of microorganisms to antimicrobial drugs” 2015. It was found that N-substituted derivatives exhibit a greater antimicrobial effect compared with unsubstituted polymer. The most sensitive to all the drugs presented was the yeast-like fungi *Candida albicans* (No. 2495) (complete suppression), as well as methicillin-resistant *S. aureus* (no. 2544), and the substituted samples almost completely suppress its growth. The most resistant strains are *P. aeruginosa* (No. 2281), *A. baumannii* (No. 2806) and *K. pneumoniae* (No. 3023), the percentage of reduction of these bacteria under the action of substituted samples does not exceed 41%, which is accounted for by their multi-resistance.

Key words: polyguanidines, polycondensation, disinfectants, antimicrobial action, resistant strains.

Введение

Одной из актуальных проблем здравоохранения является устойчивость бактерий к применяемым дезинфицирующим средствам (ДС), способствующая формированию и распространению резистентных штаммов. В медицинской литературе описаны случаи недостаточно эффективного применения ДС в отношении клинических штаммов микроорганизмов, вслед-

ствие чего патогенная и условно-патогенная микрофлора не только сохранялась длительное время на объектах внешней среды, но и накапливалась в готовых растворах дезинфектантов; отмечались случаи, когда контаминированные бактериями растворы послужили факторами передачи инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [4]. Решение данной проблемы возможно путем поиска новых или модификации существующих веществ синтетичес-

кого или растительного происхождения, обладающих антимикробным действием. К представителям такого класса соединений относятся полигуанидины, которые характеризуются высокой антимикробной активностью, низкой токсичностью и широко используются в качестве основного действующего вещества многих ДС [2]. Высокая реакционная способность гуанидиновой группировки открывает широкие возможности модификации полимерной структуры, что, вероятно, позволит повысить антимикробную активность и безопасность полимеров, получающихся в результате синтеза.

Материалы и методы

Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГГх) и его N-фенил- и N-октилзамещенные производные были синтезированы и исследованы с помощью методов, описанных в работе [7].

Оценку антибактериальных свойств образцов проводили методом серийных разведений в агаре на госпитальных штаммах бактерий и грибов — *Candida albicans* (№ 2495), метициллин-резистентного *S. aureus* (№ 2544), *P. aeruginosa* (№ 2281), *A. baumannii* (№ 2806) и *K. pneumoniae* (№ 3023), — выделенных из биологического материала пациентов Республиканской клинической больницы им. Н.А. Семашко согласно клиническим рекомендациям «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний» 2014 г., «Бактериологический анализ мочи» 2014 г., «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» 2015 г.

Для получения вегетативных клеток штаммы микроорганизмов инкубировали в жидкой питательной среде при аэробных условиях в шейкере-инкубаторе Biosan ES-20 (180 об/мин, 37°C) в течение 24 ч. Вегетативные клетки каждого тест-объекта были приготовлены в стерильном буферном растворе из соответствующих односуточных культур методом предельных разведений [1, 6]. Полученные бактериальные суспензии содержали от 10^2 до 10^3 КОЕ/мл. В асептических условиях тщательно смешивались 20 мл агаризованного мясopептонного бульона, разогретого до 50°C, и 0,05 мл 1% раствора исследуемых (со)полимеров непосредственно в чашке Петри. Параллельно с чашками Петри, содержащими растворы (со)полимеров, для контроля роста тест-объектов приготовили чашки без антимикробных препаратов. После застывания агаризованного бульона и подсушивания чашек производили инокуляцию по 0,1 мл суспензии на подготовленные твердые питательные среды в пяти повторностях и инкубировали в термостате при 37°C в течение 24 ч для подсчета выживших КОЕ.

Таблица. Антимикробное действие ПГМГГх и его N-замещенных производных на мультирезистентные штаммы

Table. Antimicrobial action of PGMGHC and its N-substituted derivatives on multi-resistant strains

Микроорганизмы Microorganisms	ПГМГГх PHMGHC	N-октил ПГМГГх N-octyl PHMG-P	N-фенил ПГМГГх N-phenyl PHMG-P
	% редукции/% of reduction		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	17	–
<i>Acinetobacter baumannii</i>	20	–	40
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33	–	41
<i>Staphylococcus aureus</i>	70	97	95
<i>Candida albicans</i>	100	100	100

Антимикробные свойства образцов оценивали с помощью процента редукции микроорганизмов (% редукции), который вычисляли по следующей формуле:

$$\% \text{ редукции} = 100 - \frac{NT \times 100}{NK},$$

где NK — количество микробных клеток в контроле, NT — количество микробных клеток в опыте.

Результаты и обсуждение

Известно [3], что ряд условно-патогенных бактерий (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) представляют наибольшую опасность как возбудители внутрибольничных инфекций, а их широкая распространенность (*A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* суммарно составляют более 50% в структуре возбудителей нозокомиальных инфекций) [5] и выраженная способность приобретать резистентность к антимикробным препаратам требует применения новых высокоэффективных ДС для борьбы с ними.

Так, ранее были проведены работы по синтезу новых производных ПГМГГх [7] для получения эффективных и безопасных антимикробных агентов. Проведенные работы показали, что наиболее чувствительными ко всем представленным препаратам являются дрожжеподобные грибы *Candida albicans* (полное угнетение), а также метициллин-резистентный *S. aureus*, причем замещенные образцы практически полностью подавляли его рост. Наиболее устойчивыми штаммами являлись *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae*. Процент подавления роста этих бактерий при действии замещенных образцов не превышал 41%, что, по-видимому, объясняется их мультирезистентностью (табл.).

Заключение

Таким образом, установлено, что N-замещенные производные ПГМГх проявляют антимикробную активность относительно резистентных штаммов бактерий. По внутрижелудочной токсичности все исследованные препараты относят-

ся к четвертому классу опасности. Особый интерес представляет N-фенилзамещенный ПГМГх как обладающий большей антимикробной активностью и низкой токсичностью. Таким образом, представляется возможным создание новых эффективных дезинфицирующих препаратов на основе модификаций полигуанидинов.

Список литературы/References

- Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф. Антимикробные полимеры. СПб.: Гиппократ, 1993. 264 с. [Afinogenov G.E., Panarin E.F. Antimicrobial polymers. St. Petersburg: Hippocrates, 1993. 264 p. (In Russ.)]
- Воинцева И.И., Гембицкий П.А. Полигуанидины — дезинфекционные средства и полифункциональные добавки в композиционные материалы. М.: ЛКМ-пресс, 2009. 303 с. [Vointseva I.I., Gembitskiy P.A. Polyguanidines — disinfectants and multifunctional additives in composite materials. Moscow: LKM-Press, 2009. 303 p. (In Russ.)]
- Крыжановская О.А., Лазарева А.В., Алябьева Н.М., Тепаев Р.Ф., Карасева О.В., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Устойчивость к антибиотикам и молекулярные механизмы резистентности у карбапенем-нечувствительных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенный в педиатрических ОРИТ г. Москвы // Антибиотики и химиотерапия. 2016. Т. 61, № 7–8. С. 22–26. [Kryzhanovskaya O.A., Lazareva A.V., Alyabieva N.M., Tepaev R.F., Karaseva O.V., Chebotar I.V., Mayanskiy N.A. Antibiotic resistance and its molecular mechanisms in carbapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* isolated in pediatric ICUs in Moscow. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2016, vol. 61, no. 7–8, pp. 22–26. (In Russ.)]
- Шкарин В.В., Саперкин Н.В., Ковалишена О.В., Благодравова А.С., Широкова И.Ю., Куликина А.А. Региональный мониторинг устойчивости микроорганизмов к дезинфектантам: итоги и перспективы // Медицинский альманах. 2012. Т. 3, № 22. С. 122–125. [Shkarin V.V., Saperkin N.V., Kovalishena O.V., Blagonravova A.S., Shirokova I.Yu., Kulyukina A.A. The regional monitoring of microorganisms resistance to disinfectants: results and perspectives. *Meditinskiy almanakh = Medical Almanac*, 2012, vol. 3, no. 22, pp. 122–125. (In Russ.)]
- Яковлев С.В., Проценко Д.Н., Шахова Т.В., Суворова М.П., Рамишвили В.Ш., Игнатенко О.В., Ярошецкий А.И., Романовский Ю.Я., Еремина Л.В. Антибиотикорезистентность в стационаре: контролируем ли мы ситуацию? // Антибиотики и химиотерапия. 2010. Т. 55, № 1–2. С. 50–58. [Yakovlev S.V., Protsenko D.N., Shakhova T.V., Suvorova M.P., Ramishvili V.S., Ignatenko O.V., Yaroshetsky A.I., Romanovsky Yu.Ya., Eremina L.V. Antibiotic resistance in hospital: do we control the situation? *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2010, vol. 55, no. 1–2, pp. 50–58. (In Russ.)]
- Albert M., Feiertag P., Hayn G. Structure-activity relationships of oligoguanidines influence of counterion, diamine, and average molecular weight on biocidal activities. *Biomacromolecules*, 2003, vol. 4, pp. 1811–1817. doi: 10.1021/bm0342180
- Stelmakh S.A., Grigor'eva M.N., Garkusheva N.M., Lebedeva S.N., Ochirov O.S., Mogonov D.M., Zhamsaranova S.D., Batoev V.B. Studies of new biocidal polyguanidines: antibacterial action and toxicity. *Polymer Bulletin*, 2020, vol. 78, pp. 1997–2008. doi: 10.1007/s00289-020-03197-1

Авторы:

Очиров О.С., к. фарм.н., ведущий инженер лаборатории химии полимеров ФГБУН Байкальский институт природопользования Сибирского отделения РАН, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия;

Бурасова Е.Г., врач-бактериолог высшей категории, зав. бактериологической лабораторией Республиканской клинической больницы им. Н.А. Семашко, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия;

Стельмах С.А., к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории химии полимеров ФГБУН Байкальский институт природопользования Сибирского отделения РАН, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия;

Григорьева М.Н., к.х.н., ведущий инженер лаборатории химии полимеров ФГБУН Байкальский институт природопользования Сибирского отделения РАН, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия;

Окладникова В.О., инженер лаборатории химии полимеров ФГБУН Байкальский институт природопользования Сибирского отделения РАН, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия;

Могнонов Д.М., д.х.н., главный научный сотрудник лаборатории химии полимеров ФГБУН Байкальский институт природопользования Сибирского отделения РАН, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия.

Authors:

Ochirov O.S., PhD (Pharmacology), Leading Engineer, Laboratory of Polymer Science, Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the RAS, Ulan-Ude, The Republic of Buryatia, Russian Federation;

Burasova E.G., Board Certified Bacteriologist, Head of the Bacteriological Laboratory, Republican Clinical Hospital named after N.A. Semashko, Ulan-Ude, The Republic of Buryatia, Russian Federation;

Stelmakh S.A., PhD (Chemistry), Senior Researcher, Laboratory of Polymer Science, Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the RAS, Ulan-Ude, The Republic of Buryatia, Russian Federation;

Grigor'eva M.N., PhD (Chemistry), Leading Engineer, Laboratory of Polymer Science, Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the RAS, Ulan-Ude, The Republic of Buryatia, Russian Federation;

Okladnikova V.O., Engineer, Laboratory of Polymer Science, Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the RAS, Ulan-Ude, The Republic of Buryatia, Russian Federation;

Mogonov D.M., PhD, MD (Chemistry), Head Researcher, Laboratory of Polymer Science, Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the RAS, Ulan-Ude, The Republic of Buryatia, Russian Federation.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://iimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Инфекция и иммунитет» и «Инструкцией для авторов», представленной на сайте. С февраля 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» публикует статьи на двух языках (русском и английском).

Основные виды статей, публикуемых в журнале

Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел **«Благодарности»** не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллегам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реактивов или оборудования, как правило, помещаются в разделе «Материалы и методы».

Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано ниже (см. «Подготовка статей»). Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Описание статьи из журнала:

Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Иммунологические методы в дифференциальной диагностике // Туберкулез и болезни легких. 2011. Т. 88, № 11. С. 50–53.

Salina T.Yu., Morozova T.I. Immunological methods in differential diagnostics. Tuberculosis and Lung Diseases, 2011, vol. 88, no. 11, pp. 50–53.

Описание статьи из книги (монографии):

Шурыгина И.А., Чеснокова М.В., Климов В.Т. Псевдотуберкулез. Новосибирск: Наука, 2003. 320 с.

Shurygina I.A., Chesnokova M.V., Klimov V.T. Pseudotuberculosis. Novosibirsk: Nauka, 2003. 320 p.

Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Turenne C.Y., Wallace R., Behr M.A. Mycobacterium avium in the postgenomic era. Clin. Microb. Rev., 2007, vol. 20, no. 2, pp. 205–229.

Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. Basic and Clinical Immunology. Ed. Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G. Appleton & Lange, 1994, pp. 66–79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. Не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Узаконенные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения, регламентированного международными правилами (с, ч, см, мл, мг, kDa и т.д.).

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, т.е. ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота — 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца — 82 мм, для 2 столбцов — 170 мм

Таблицы. Каждая таблица предоставляется отдельным файлом. Таблицы нумеруются арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их включения в текст статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка в отдельный файл. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарисовочные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tif (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Инфекция и иммунитет» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

При предоставлении статьи авторы должны руководствоваться требованиями, приведенными в нижеследующих пунктах. Статья может быть отклонена, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Инфекция и иммунитет» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации или книги. Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.
2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.
3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:
 - 1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках);
 - название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах);
 - почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках);
 - телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail;
 - фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности;
 - полное название статьи, направляемой в редакцию;
 - количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц;
 - раздела журнала, для которого предназначена данная работа: «Лекции», «Обзоры», «Оригинальные статьи», «Краткие сообщения», «В помощь практическому врачу»;
 - дата отправления работы.
 - 2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»).

- 3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:
 - название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);
 - подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа; в случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное учреждение; для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);
 - сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);
 - не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках;
 - адрес для переписки с указанием номера телефона, факса и адреса e-mail.
- 4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.
- 5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).
- 6) Файл в формате .doc, .docx, .rtf со списком, в котором указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные.
- 7) Таблицы, если они есть — каждая отдельным файлом (название каждой таблицы должно быть приведены заголовком в файле с самой таблицей).
- 8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература») в виде таблицы из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	Ф.И.О., название публикации и источника на английском языке	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее DOI
Размещаются в таблице в алфавитном порядке, вначале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой	Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше	Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована — для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий, редакция просит предоставлять их перевод, обозначая его красным цветом шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк	В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в т.ч. системы www.e-library.ru . DOI статьи приводится в квадратных скобках после URL-адреса

4. Текст должен быть набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.
5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям.
6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать на сайте журнала (<http://iimmun.ru>) в рубрике «Рецензирование» раздела «О журнале».

Вы можете оформить подписку на журнал «Инфекция и иммунитет» через отделения связи: Каталог «Роспечать» — индекс 95001; Объединенный каталог «Пресса России» и электронный каталог «Российская периодика» в сети Internet на сайте www.agrk.org — индекс 41392. Цена свободная. Подписка на электронную версию журнала на сайте www.elibrary.ru

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Амосова И.В.	158	Ковалев А.В.	120	Синяков А.А.	113
Андрюков Б.Г.	69	Ковалищенко О.В.	21	Смирнова О.В.	113
Антипова А.Ю.	105	Костина Ю.А.	165	Смирнова С.В.	149
Асланов Б.И.	185	Кривицкая В.З.	127	Солдатова А.А.	165
Бажутова И.В.	51	Кузнецова Е.В.	127	Солодовникова Г.А.	165
Барило А.А.	149	Кутырев В.В.	95	Соминина А.А.	127
Баркинхоева Л.А.	85	Лаврентьева И.Н.	105	Сомова Л.М.	69
Бартов М.С.	142	Лялина Л.В.	158	Стельмах С.А.	193
Барышникова Д.В.	179	Лямин А.В.	51	Степанова Е.А.	142
Бичурина М.А.	105	Ляпун И.Н.	69	Тимошичева Т.А.	158
Бруснигина Н.Ф.	59	Майорова В.Г.	127	Тимченко Н.Ф.	69
Бугоркова С.А.	95	Максимова Л.В.	95	Тихонова Н.Т.	85
Бурасова Е.Г.	193	Малиновская В.В.	142	Тишко В.В.	120
Бурова Л.А.	33	Марченко В.А.	158	Тотоян Арег А.	105
Бынина М.П.	69	Матвеева Л.В.	165	Тотоян Артем А.	33
Вакин В.С.	158	Матосова Е.В.	69	Трунин Д.А.	51
Ванькова О.Е.	59	Мерзляков В.С.	120	Тураева Н.В.	85
Васильева А.А.	158	Могнонов Д.М.	193	Харитонова В.Ф.	95
Власов А.А.	120	Мордык А.В.	179	Хоанг М.	105
Войцеховская Е.М.	158	Морозов А.Д.	120	Цвиркун О.В.	85
Волков А.А.	9	Мосина Л.М.	165	Цуканов В.В.	113
Выжлова Е.Н.	142	Москаленко О.Л.	113	Червякова М.А.	185
Григорьева М.Н.	193	Найденова Е.В.	95	Чехляева Т.С.	85
Грудинин М.П.	158	Никонов И.Ю.	158	Чудайкин А.Н.	165
Гурьева Л.А.	95	Носков Я.А.	120	Чумачкова Е.А.	95
Даниленко Д.М.	127	Овчаренко Е.С.	113	Шамьонов М.Р.	95
Дарьина М.Г.	185	Окладникова В.О.	193	Шаркова Е.А.	95
Дедков В.Г.	9	Осина Н.А.	95	Шкарин В.В.	21
Долгова А.С.	9	Очиров О.С.	193	Шперлинг Е.А.	120
Дробот Е.И.	69	Петрова Е.Р.	127	Шперлинг М.И.	120
Елманова Н.Г.	113	Позднякова М.Г.	158	Щербакова С.А.	95
Ерохов Д.В.	85	Поляков А.С.	120	Aainouss A.	78
Жестков А.В.	51	Попова Н.Ю.	95	Belghiti A.	78
Захватова А.С.	185	Портенко С.А.	95	Bennani K.	78
Звягинцев Д.П.	120	Проскурякова М.В.	95	Blaghen M.	78
Зуева Л.П.	185	Пузырева Л.В.	179	Chetioui F.	78
Исакова-Сивак И.Н.	142	Разумный В.А.	51	El Messaoudi M.D.	78
Исмагуллин Д.Д.	51	Руденко Л.Г.	142	Khyatti M.	78
Казакова Е.С.	95	Рыбка А.Г.	172	Lamaammal A.	78
Капкаева Р.Х.	165	Рязанова О.С.	69	Messaoudi M.	78
Катышев А.Д.	95	Светличная Ю.С.	185	Momen G.	78
Кедрова О.В.	95	Сергеева А.В.	21	Mouslim J.	78

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

аллергены	149	канцерогенез	173	структура клетки стрептококка	33
аллергия	149	клетки памяти	173	трансплантация солидных органов	59
анемия	179	клеточно-ассоциированные факторы		тромбоцитопения	179
антибактериальные препараты	96	патогенности микроба	33	условно-патогенные микроорганизмы	96
антигены	173	клиническое значение	51	факторы патогенности	51
антигриппозный иммунитет	128	коморбидность	21	хемилюминесценция	114
антимикробная резистентность		корреляция	166	холангиоканцерогенез	173
микроорганизмов	186	корь	105	холангиокарцинома	173
антимикробная терапия	186	краснуха	85	холангиоциты	173
антимикробное действие	194	лейкопения	179	хронический атрофический гастрит	114
антиоксидантная защита	114	микробиота/микробиота	173	хронический гастрит	166
антитела	173	молекулярная диагностика	9	хронический описторхоз	173
атопический дерматит	149	мониторинг	120	цитомегаловирус	59
бактериальные осложнения COVID-19	120	надзор	85	цитомегаловирусная инфекция	59
вакцина	159	новая коронавирусная инфекция	120	цитопения	179
вакцинация	128	описторхи	173	частота встречаемости	59
вакцинные штаммы	128	ОТ-ПЦР	96	экспериментальная инфекция	70
васкулоэндотелиальный фактор роста	166	пандемия	105, 159	экстрацеллюлярные факторы	
вирус гриппа А	159	пародонтит	51	патогенности микроба	33
вирус краснухи	85	пародонтопатогенные комплексы	51	элиминация	85
ВИФЕРОН®	142	патогенез	51	эндогенные мутагены (канцерогены)	173
ВИЧ-инфекция	179	патоморфология	70	эпидемиологическая безопасность	186
внебольничная пневмония	96	пепсиноген	166	эпидемиология	85
возбудители инфекций кровотока	186	первичные/вторичные желчные		Южный Вьетнам	105
возрастные группы	105	кислоты	173	язвенная болезнь	21
генотип	85, 173	перекисное окисление липидов	114	язвенная болезнь	
генотипирование	59	персистентная инфекция	70	двенадцатиперстной кишки	166
генотипические свойства	173	полигуанидины	194	язвенная болезнь желудка	166
ГКС-индуцированный лейкоцитоз	120	поликонденсация	194	Cas12	9
глюкокортикостероиды	120	полирезистентность возбудителей	186	Cas13	9
гранулематозное воспаление	70	популяционный иммунитет	128	COVID-19	96, 105, 120, 142
дезинфицирующие средства	194	предраковые состояния желудка	114	CRISPR/Cas	9
дормантное состояние	70	прогноз	166	diagnosis	78
изотермическая амплификация	9	прогрессирующий системный склероз	21	extrapulmonary tuberculosis	78
иммунные комплексы	173	пролиферация	173	GeneXpert	78
иммунобиологическая реактивность	173	псориаз	149	H1N1pdm	159
иммуногенность	159	ПЦР	96	Helicobacter pylori	39, 114, 166
иммунографик	159	ранний рак желудка	114	in vitro	142
иммунодефицит	179	реакция торможения гемагглютинации	128	Opisthorchis felineus	173
иммунологическая память	173	ревматоидный артрит	21	paucibacillary tuberculosis	78
инактивированная гриппозная вакцина	128	резистентные штаммы	194	SARS-CoV-2	142
инвазия	173	сенсбилизация	149	sensitivity	78
интерферон альфа	142	синдром Рейно	21	Streptococcus pyogenes	33
инфекции, связанные с оказанием		системная красная волчанка	21	Vero	142
медицинской помощи	186	соматические мутации	173	Yersinia pseudotuberculosis	70
ИФА	96	стрептококки	51		

Иллюстрации к статье «Основные факторы патогенности *Streptococcus pyogenes*» (авторы: Л.А. Бурова, Артем А. Тотолян) (с. 9–26)

Illustrations for the article “Major pathogenicity factors of *Streptococcus pyogenes*” (authors: Burova L.A., Totolian Artem A.) (pp. 9–26)

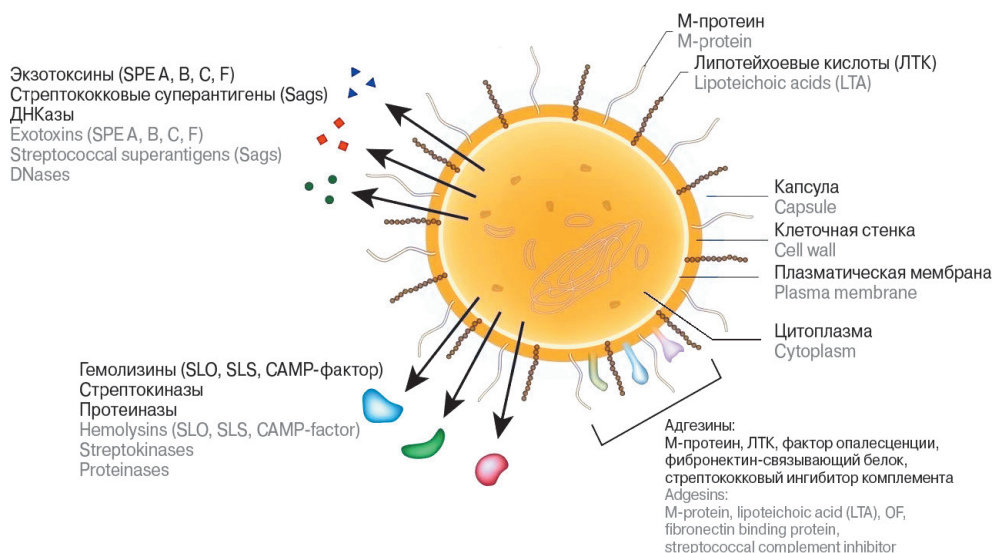


Рисунок 1. Схема структуры клетки стрептококка и основных биологически активных продуктов, обеспечивающих адгезивные, токсигенные и инвазивные свойства *S. pyogenes*

Figure 1. Schematic diagram of the structure of streptococcal cell and the main biologically active products that provide the adhesive, toxigenic and invasive properties of *S. pyogenes*

Примечание. За основу взят рисунок из Alila Medical Media (www.AlilaMedicalMedia.com), перевод и редакция авторов обзора.

Note. Illustration based on a drawing from Alila Medical Media (www.AlilaMedicalMedia.com)

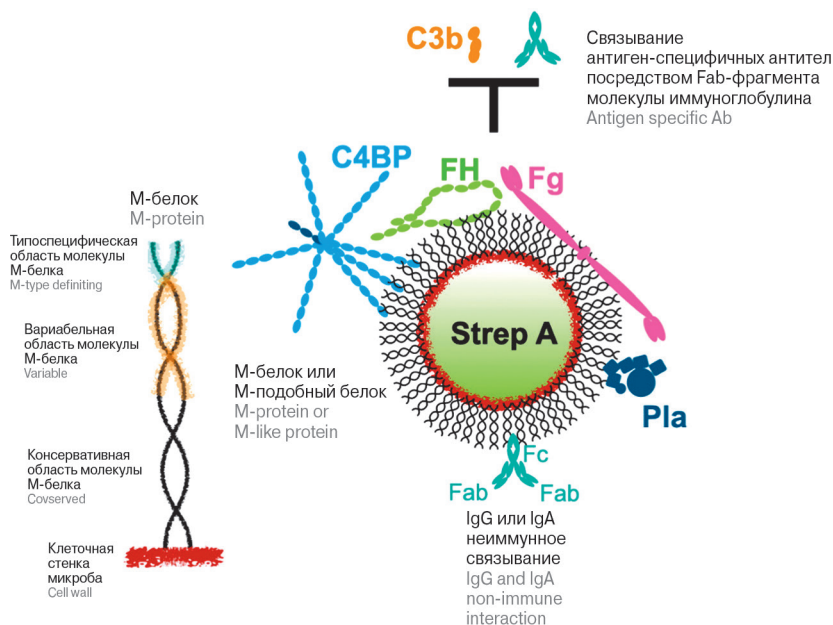


Рисунок 2. Способность М- и М-подобных белков *S. pyogenes* связывать белки плазмы крови человека

Figure 2. Ability of M- and M-like proteins of *S. pyogenes* to bind human plasma proteins

Подписной индекс:
Роспечать – 95001
Пресса России – 41392

ISSN 2220-7619



9 772220 761900