

2024

ИНФЕКЦИЯ
И
ИММУНИТЕТ

Иллюстрация к статье «3D клеточные культуры: перспективы использования в вирусологии» (авторы: Т.А. Кузнецова, М.Р. Алиев, А.А. Михалко, М.Ю. Щелканов) (с. 1045–1062)

Illustration for the article “3D cell cultures: prospects for use in virology” (authors: Kuznetsova T.A., Aliev M.R., Mikhalko A.A., Shchelkanov M.Yu.) (pp. 1045–1062)

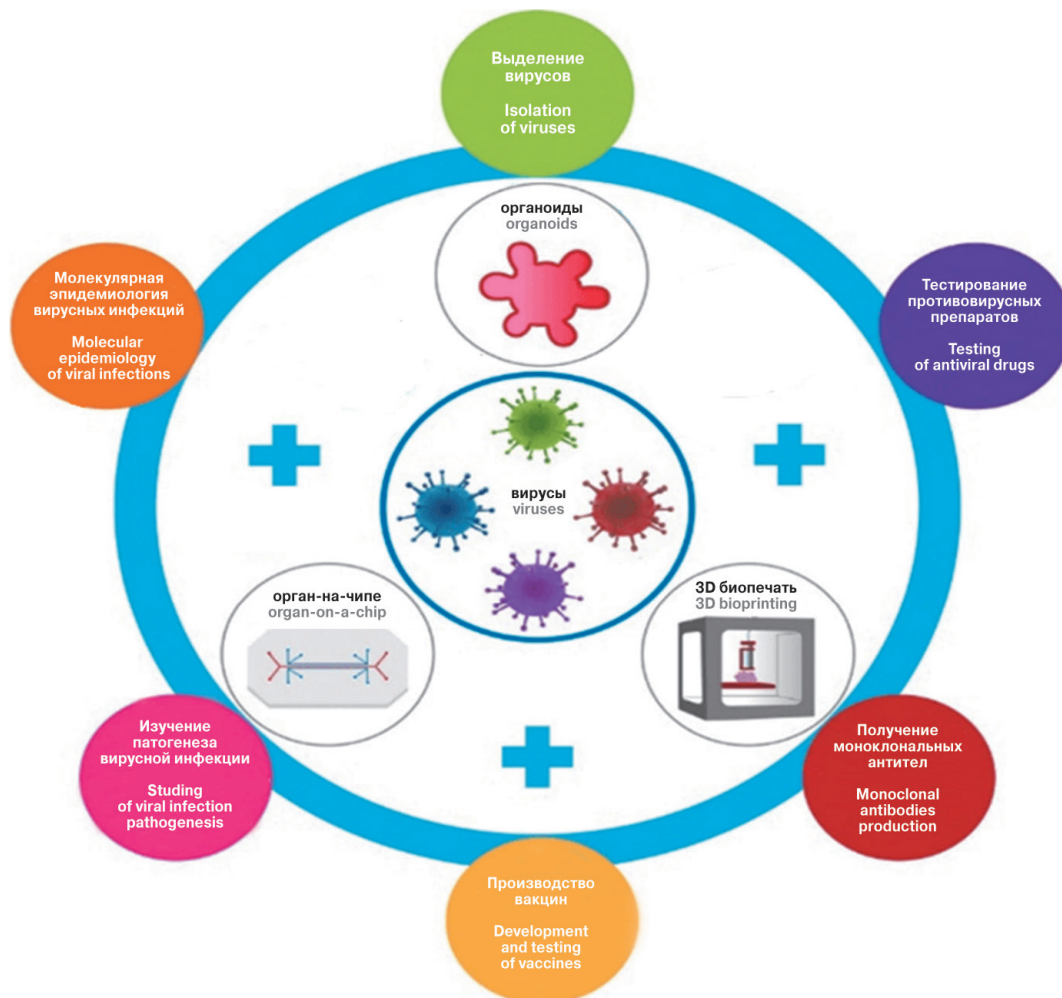


Рисунок. Современные возможности трехмерных (3D) клеточных культур (органоиды, орган-на-чипе, 3D-биопечать) в вирусологии

Figure. Modern possibilities of three-dimensional (3D) cell cultures (organoids, organ-on-a-chip, 3D bioprinting) in virology

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

ноябрь–декабрь

2024, том 14

№ 6

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
Маеда К. д.вет.н., профессор, директор Национального института инфекционных заболеваний, Токио, Япония
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 Ангеловфа, 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
Фрейдлин И.С. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, 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 Камбоджи, Пномпень, Камбоджа

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
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) 644-63-11.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Типография ООО «Аллегро»

196084, Санкт-Петербург,
наб. Обводного канала, 88, литера С,
помещ. 7-Н, оф. 1, 2.
Тел./факс: (812) 388-90-00.

Подписано в печать 24.12.2024 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 25.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1014

© Инфекция и иммунитет
© Северо-Западное отделение медицинских наук, 2024
© НИИЭМ имени Пастера, 2024
© СПб РО РААКИ, 2024

Russian Journal of Infection and Immunity (Infektsiya i immunitet)

November–December

2024, volume 14

No. 6

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 DSc (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 DSc (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** DSc (Biology), Professor, Central Research Institute of Tuberculosis, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Moscow, Russian Federation
- Luis Barbeito** MD, PhD, Professor, Institut Pasteur de Montevideo, Head of the Laboratory of Neurodegeneration, Montevideo, Uruguay
- Paul Brey** PhD, Professor, Institut Pasteur du Laos, Director; Laboratory of Medical Entomology and Biology of Disease Vectors, Head, Vientiane, Laos
- Alexander L. Gintsburg** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation
- Irina N. Lavrentieva** DSc (Medicine), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg, Russian Federation
- Yuri V. Lobzin** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation
- Hechmi Louzir** Professor, Institut Pasteur de Tunis, President, Tunis, Tunisia
- Dmitry K. Lvov** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation
- Ken Maeda** PhD, DVM, Professor, National Institute of Infectious Diseases, Director, Tokyo, Japan
- Nikolai V. Medunitsyn** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Scientific Center for Expertise of Medical Products, Moscow, Russian Federation
- Michael I. Michailov** DSc (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, Professor, Institute Stephan Angeloff; Head of the Department of Infectious Microbiology, Sofia, Bulgaria
- Gennadiy G. Onishchenko** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Deputy President of the Russian Academy of Education, Moscow, Russian Federation
- Vadim V. Pokrovskiy** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Head of the Federal AIDS Center, Moscow, Russian Federation
- Angela Santoni** PhD, Professor, Institut Pasteur in Italy — Cenci Bolognetti Foundation, Scientific Director; Full Professor of Immunology and Immunopathology, Department of Molecular Medicine, Sapienza University of Rome, Rome, Italy
- Andrei S. Simbirtsev** DSc (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation
- Irina S. Freidlin** DSc (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, Institute of Experimental Medicine, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
- Valery A. Chereshev** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology and Physiology, Scientific Director, Yekaterinburg, Russian Federation
- Andre Spiegel** MD, PhD, Professor, Institut Pasteur du Cambodge, Director, Phnom Penh, Cambodia

Members of editorial council

Vladimir A. Aleshkin	DSc (Biology), Professor, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Director, Moscow, Russian Federation
Oleg V. Bukharin	DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Research Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Scientific Director, Orenburg, Russian Federation
Boris I. Vishnevsky	DSc (Medicine), Professor, Research Institute of Phthisiopulmonology, Head Researcher, Department of Laboratory Diagnostic, St. Petersburg, Russian Federation
Ilija I. Dolgushin	DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Chelyabinsk State Medical Academy, President, Moscow, Russian Federation
Vitaly V. Zverev	DSc (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	DSc (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Intestinal Infections, St. Petersburg, Russian Federation
Kirill P. Kashkin	DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Russian Academy of Postgraduate Medical Education, Professor of the Department of Immunology, Moscow, Russian Federation
Olga I. Kubar	DSc (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Leading Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
Victor V. Maleev	DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Adviser of the Director, Moscow, Russian Federation
Alevtina M. Savicheva	DSc (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	DSc (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	DSc (Medicine), Professor, Pavlov State Medical University, Head of the Department of Microbiology and Virology, St. Petersburg, Russian Federation
Susanna M. Kharit	DSc (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	DSc (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	DSc (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.
Phone: +7 (812) 233-08-58.

Publishing House of St. Petersburg Pasteur Institute

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.
Phone/fax: +7 (812) 644-63-11.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Produced at the Allegro Printing House

196084, Russian Federation, St. Petersburg,
Naberezhnaya Obvodnogo Kanala, 88,
build. C, suite 7-H, off. 1, 2.
Phone/fax: +7 (812) 388-90-00.

Passed for printing 24.12.2024. 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, 2024

© St. Petersburg Pasteur Institute, 2024

© SPb RAACI, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Кузнецова Т.А., Алиев М.Р., Михалко А.А., Щелканов М.Ю.

3D КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ВИРУСОЛОГИИ 1045

Власова Л.Д.

СОВРЕМЕННЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ВИРОТЕРАПИИ КАК СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ

ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ 1063

Любимова Е.В., Савлевич Е.Л., Зурочка А.В., Митрофанова Е.С.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ХРОНИЧЕСКИМ РИНОСИНУСИТОМ И ТЯЖЕСТЬЮ ТЕЧЕНИЯ COVID-19 1070

Оригинальные статьи

Королева И.В., Михайлова Е.С., Привалова К.А., Ермолаева Л.А., Туманова С.А., Суворов А.Н.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ СРЕДИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ

***POPPHYROMONAS GINGIVALIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ**

ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ 1079

Талаев В.Ю., Заиченко И.Е., Светлова М.В., Воронина Е.В., Бабайкина О.Н., Неумоина Н.В., Перфилова К.М.

АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ В ГРУППАХ CD4⁺ КЛЕТОК, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ

ПО ЭКСПРЕССИИ CCR6, У ЛИЦ, ИНФИЦИРОВАННЫХ И НЕИНФИЦИРОВАННЫХ *HELICOBACTER PYLORI* 1087

Смирнова О.В., Синяков А.А.

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ

РИНОСИНУСИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФЕНОТИПА ЗАБОЛЕВАНИЯ 1097

Рыкова В.А., Подладчикова О.Н., Анисимова А.С., Аронова Н.В., Водопьянов А.С., Темякова С.Ю., Гудуева Е.Н.

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*,

ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ В г. РОСТОВЕ-НА-ДОНУ

В 2021–2023 гг. 1104

Кузнецова М.В., Михайловская В.С., Кудрявцева Л.Г., Сергевнин В.И.

НОЗОКОМИАЛЬНАЯ ИНФЕКЦИЯ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* В КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОМ СТАЦИОНАРЕ:

КЛИНИКО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ 1117

Сергевнин В.И., Рожкова М.В.

ЯВЛЯЮТСЯ ЛИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫЕ ГРУППОЙ РИСКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ

И ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ COVID-19? 1131

Базыкина Е.А., Троценко О.Е., Балахонцева Л.А., Котова В.О.

ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ, СОЧЕТАННОЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ

ГЕПАТИТАМИ В ДФО 1139

Давыденко В.С., Останкова Ю.В., Щемелев А.Н., Ануфриева Е.В., Кушнарева В.В., Тотолян А.А.

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ СПЕЦИФИЧЕСКИМИ ГЕНАМИ ЧЕЛОВЕКА,

АССОЦИИРОВАННЫМИ С ПРИКРЕПЛЕНИЕМ ВИЧ 1153

Канаева О.И., Романенкова Н.И., Евсеева В.А., Толстых Н.А., Погребная Т.Н., Блохинова М.А., Антоненков К.А.

ЗНАЧЕНИЕ ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ПРИБЫВШИМИ ИЗ НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ

ПО ПОЛИОМИЕЛИТУ ТЕРРИТОРИЙ ДЛЯ КОНТРОЛЯ СИТУАЦИИ С ЭТОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ 1169

Мелентьев Д.А., Новиков Д.В., Лапин В.А., Мохонова Е.В., Цыганова М.И., Манакова Э.А., Новиков В.В.

АНТИТЕЛА К ПОВЕРХНОСТНЫМ БЕЛКАМ ECHOVIRUS 30 (*ENTEROVIRUS, PICORNAVIRIDAE*)

В КРОВИ ЖИТЕЛЕЙ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ 1179

Попова А.Ю., Егорова С.А., Смирнов В.С., Ежлова Е.Б., Миличкина А.М., Мельникова А.А., Башкетова Н.С.,
Историк О.А., Буц Л.В., Рэмзи Э.С., Дрозд И.В., Жимбаева О.Б., Дробышевская В.Г., Данилова Е.М.,
Иванов В.А., Тотолян А.А.

**ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ К ВАКЦИНОУПРАВЛЯЕМЫМ ИНФЕКЦИЯМ (КОРИ, КРАСНУХЕ,
ЭПИДЕМИЧЕСКОМУ ПАРОТИТУ) У НАСЕЛЕНИЯ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ 1187**

Безрукова Е.В., Воробейчиков Е.В., Конусова В.Г., Симбирцев А.С., Артюшкин С.А., Шатый Н.О.

**ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ГЛЮКАФЕРОН В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ
СРЕДНЕТЯЖЕЛОЙ ФОРМЫ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ SARS-CoV-2 1209**

Краткие сообщения

Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю., Железнова Н.В.

**РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ
ОКРУГЕ РОССИИ 1221**

Алексеев Д.В., Каргина Е.А., Кокорев Д.А., Ковалев А.М., Бородулина Е.А., Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д.

**СРАВНЕНИЕ ТОЧНОСТИ MALDI-ToF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ШТАММОВ
MYCOBACTERIUM ABSCESSUS COMPLEX, ВЫДЕЛЕННЫХ НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ 1227**

Правила для авторов 1233

Авторский указатель 1236

Предметный указатель 1236

CONTENTS

Reviews

Kuznetsova T.A., Aliev M.R., Mikhalko A.A., Shchelkanov M.Yu.

3D CELL CULTURES: PROSPECTS FOR USE IN VIROLOGY 1045

Vlasova L.D.

CURRENT PERSPECTIVES OF VIROTHERAPY AS A CANCER TREATMENT STRATEGY 1063

Lyubimova E.V., Savlevich E.L., Zurochka A.V., Mitrofanova E.S.

A RELATION BETWEEN CHRONIC RHINOSINUSITIS WITH NASAL POLYPS AND COVID-19 COURSE 1070

Original articles

Koroleva I.V., Mikhailova E.S., Privalova K.A., Ermolaeva L.A., Tumanova S.A., Suvorov A.N.

HETEROGENEITY OF VIRULENCE FACTORS AMONG *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* CLINICAL ISOLATES FROM PATIENTS WITH CHRONIC GENERALIZED PERIODONTITIS 1079

Talayev V.Yu., Zaichenko I.Ye., Svetlova M.V., Voronina E.V., Babaykina O.N., Neumoina N.V., Perfilova K.M.

EXPRESSION OF CCR6 ON *HELICOBACTER PYLORI*-SPECIFIC CIRCULATING CD4⁺ T CELLS 1087

Smirnova O.V., Sinyakov A.A.

DISEASE PHENOTYPE-DRIVEN ALTERATIONS IN CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY DURING CHRONIC RHINOSINUSITIS 1097

Rykova V.A., Podladchikova O.N., Anisimova A.S., Aronova N.V., Vodopyanov A.S., Temyakova S.Yu., Gudueva E.N.

PHENOTYPIC AND GENETIC ANALYSIS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS ISOLATED FROM COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA PATIENTS IN ROSTOV-ON-DON IN 2021–2023 1104

Kuznetsova M.V., Mihailovskaya V.S., Kudryavtseva L.G., Sergevni V.I.

NOSOCOMIAL *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* INFECTION IN A CARDIAC SURGERY HOSPITAL: CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL FEATURES 1117

Sergevni V.I., Rozhkova M.V.

ARE HIV-INFECTED PEOPLE AT RISK GROUP FOR COVID-19 MORBIDITY AND SEVERE COURSE? 1131

Bazykina E.A., Trotsenko O.E., Balakhontseva L.A., Kotova V.O.

EPIDEMIC MANIFESTATIONS OF HIV COMBINED WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS IN THE FAR EASTERN FEDERAL DISTRICT 1139

Davydenko V.S., Ostankova Yu.V., Schemelev A.N., Anufrieva E.V., Kushnareva V.V., Totolian A.A.

BIOINFORMATICAALLY ANALYZED RELATIONSHIPS BETWEEN SPECIFIC HUMAN GENES ASSOCIATED WITH HIV ATTACHMENT 1153

Kanaeva O.I., Romanenkova N.I., Evseeva V.A., Tolstykh N.A., Pogrebnaya T.N., Blokhinova M.A., Antonenkov K.A.

IMPORTANCE OF VIROLOGICAL SURVEILLANCE AFTER MIGRANTS FROM POLIO HIGH-RISK TERRITORIES FOR POLIOMYELITIS MONITORING IN THE RUSSIAN FEDERATION 1169

Melentev D.A., Novikov D.V., Lapin V.A., Mokhonova E.V., Tsiganova M.I., Manakova E.A., Novikov V.V.

BLOOD ANTI-SURFACE PROTEINS ECHOVIRUS 30 (*ENTEROVIRUS, PICORNAVIRIDAE*) ANTIBODIES IN RESIDENTS OF THE NIZHNY NOVGOROD REGION 1179

Popova A.Yu., Egorova S.A., Smirnov V.S., Ezhlova E.B., Milichkina A.M., Melnikova A.A., Bashketova N.S., Istorik O.A., Buts L.V., Ramsay E.S., Drozd I.V., Zhimbaeva O.B., Drobyshevskaya V.G., Danilova E.M., Ivanov V.A., Totolian A.A.

HERD IMMUNITY TO VACCINE PREVENTABLE INFECTIONS IN SAINT PETERSBURG AND THE LENINGRAD REGION: SEROLOGICAL STATUS OF MEASLES, MUMPS, AND RUBELLA 1187

Bezrukova E.V., Vorobeychikov E.V., Konusova V.G., Simbirtsev A.S., Artyushkin S.A., Shaty N.O.

EXPERIENCE OF USING THE PREPARATION GLUCAFERON WITHIN A COMBINATION THERAPY OF MODERATE SARS-CoV-2-CAUSED NOVEL CORONAVIRUS INFECTION 1209

Short communications*Laurentieva I.N., Antipova A.Yu., Zheleznova N.V.***PREVALENCE OF PARVOVIRUS INFECTION IN THE NORTHWESTERN FEDERAL DISTRICT OF RUSSIA 1221***Alekseev D.V., Kargina E.A., Kokorev D.A., Kovalyov A.M., Borodulina E.A., Lyamin A.V., Ismatullin D.D.***COMPARISON OF MALDI-ToF MASS SPECTROMETRY IDENTIFICATION ACCURACY
OF MYCOBACTERIUM ABSCESSUS COMPLEX STRAINS, ISOLATED ON VARIOUS NUTRIENT MEDIA 1227****Instructions to Authors 1233****Author index 1236****Subject index 1236**

3D КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ВИРУСОЛОГИИ

Т.А. Кузнецова¹, М.Р. Алиев^{1,2}, А.А. Михалко^{1,2}, М.Ю. Щелканов^{1,2}

¹ ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия

² Дальневосточный федеральный университет, Школа медицины и наук о жизни, г. Владивосток, Россия

Резюме. Традиционные методы культивирования клеток *in vitro*, использующие, как правило, монослойные клеточные линии, которые разрастаются на поверхности подложки (2D-культивирование), не способны имитировать структурную организацию трехмерной (3D) клеточной сети *in vivo* и недостаточны для моделирования живых тканей с целью изучения межклеточной сигнализации, пролиферации, дифференцировки, экспрессии генов и белков, реакции на различные стимулы и метаболизм лекарств. С помощью 2D-культивирования невозможно адекватно воспроизвести взаимодействие вируса с клетками хозяина и патогенез заболевания на уровне отдельных тканей — технологической платформой для получения наиболее надежных и реалистичных результатов в этой области является 3D-культивирование клеток. На основе анализа научной литературы, содержащейся в основных базах данных (Web of Science, PubMed, Scopus, Elsevier, Google Scholar и РИНЦ), в настоящем обзоре дана краткая характеристика различных видов и типов 3D клеточных культур, а также методов их получения и поддержания жизнеспособности. Рассмотрены современные возможности и перспективы их использования в вирусологических исследованиях. Обсуждаются основные аспекты применения 3D клеточных линий: выделение, культивирование, изучение механизмов репродукции вирусов человека и животных, взаимодействия вируса с организмом хозяина и иммунопатогенеза. Анализируются возможности использования 3D культур для производства и тестирования вакцин, а также для разработки и тестирования противовирусных лекарственных препаратов и в целом для выбора стратегии лечения вирусных инфекций. Помимо преимуществ и перспектив использования 3D клеточных культур в вирусологии, отражены и их недостатки. Особое внимание в обзоре отведено таким 3D системам *ex vivo*, как органоиды и «орган-на-чипе», которые в значительной степени соответствуют требованиям лабораторных моделей в вирусологических исследованиях и существенно расширяют возможности исследований на новом уровне, промежуточном между клеточной и органной культурой. Основной характеристикой органоидов является имитация тканевой организации, функциональности и генетической специфичности конкретной ткани или части органа. Такой подход, в частности, позволяет существенно повысить чувствительность модели для изоляции вируса. В обзоре проанализированы данные многочисленных исследований, касающихся применения органоидов для изучения вирусов человека и животных, которые проявляют сродство к определенным тканям, и в частности — результаты изучения на этих моделях особенностей иммунопатогенеза респираторных вирусных инфекций.

Ключевые слова: 3D клеточные культуры, органоиды, орган-на-чипе, биопечать 3D, вирусные инфекции, вирусологические исследования *ex vivo*, моделирование механизмов патогенеза.

Адрес для переписки:

Кузнецова Татьяна Алексеевна
690087, Россия, Приморский край, г. Владивосток,
ул. Сельская, 1, ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (423) 244-24-46. E-mail: takuznets@mail.ru

Contacts:

Tatyana A. Kuznetsova
690087, Russian Federation, Vladivostok, Selskaya str., 1,
G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.
Phone: +7 (423) 244-24-46. E-mail: takuznets@mail.ru

Для цитирования:

Кузнецова Т.А., Алиев М.Р., Михалко А.А., Щелканов М.Ю. 3D клеточные культуры: перспективы использования в вирусологии // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1045–1062. doi: 10.15789/2220-7619-DCC-17656

Citation:

Kuznetsova T.A., Aliev M.R., Mikhalko A.A., Shchelkanov M.Yu. 3D cell cultures: prospects for use in virology // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1045–1062. doi: 10.15789/2220-7619-DCC-17656

3D CELL CULTURES: PROSPECTS FOR USE IN VIROLOGY

Kuznetsova T.A.^a, Aliev M.R.^{a,b}, Mikhalko A.A.^{a,b}, Shchelkanov M.Yu.^{a,b}

^a G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation

^b Far Eastern Federal University, School of Medicine and Life Sciences, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. As a rule, traditional methods of cell cultivation *in vitro* using monolayer cell lines (2D cultivation) are unable to simulate the structural organization of a three-dimensional (3D) cell network *in vivo* and are insufficient for modeling living tissues to study intercellular signaling, proliferation, differentiation, gene and protein expression, reactions to various stimuli and drug metabolism. Using 2D cultivation, it is impossible to adequately reproduce a virus-host cell interaction and disease pathogenesis at the level of individual tissues. The technological platform for obtaining the most reliable results is 3D cell cultivation. Based on the analysis of scientific literature contained in the main databases (Web of Science, PubMed, Scopus, Elsevier, Google Scholar and RSCI), our review provides a brief description of various types of 3D cultures, as well as methods for their production and viability maintenance. The modern prospects of their use in virological research are discussed. The main aspects for application of 3D-cultures are analyzed: isolation, cultivation and study of mechanisms for virus reproduction, virus-host interaction, the study of immunopathogenesis and epidemiological prognosis of viral infections. The possibilities of 3D cultures for production and testing of vaccines, antiviral drugs, and, generally, for choosing a treatment strategy of viral infections are analyzed. In addition to the advantages and prospects of using 3D-cell cultures in virology, their disadvantages are also assessed. Special attention is devoted to such *ex vivo* 3D systems, as organoids and “organ-on-a-chip”, which largely meet the requirements of laboratory models in virological research. The hallmark characteristics of organoids is imitation of tissue organization, functionality and genetic specificity in a specific tissue or part of an organ. This approach allows to markedly increase model sensitivity for virus isolation. The review analyzes the data from numerous studies concerning the use of organoids to examine human and animal viruses, which display affinity for certain tissues and the data on assessing the features of immunopathogenesis behind respiratory viral infections.

Key words: 3D cell culture, organoids, organ-on-a-chip, bioprinting 3D, viral infections, *ex vivo* virological research, pathogenesis mechanism modeling.

Введение

Клетки — основные структурно-функциональные единицы всех живых организмов — находясь во внеклеточном матриксе, имеющем сложную трехмерную архитектуру, взаимодействуют с соседними клетками посредством как поверхностных рецепторов, так и растворимых медиаторов [2]. Структурные взаимодействия клетка–клетка и клетка–внеклеточный матрикс образуют трехмерную сеть, которая поддерживает тканевую специфичность и гомеостаз. В этой связи традиционные методы культивирования клеток, к которым относится старейший и наиболее распространенный тип культивирования — двумерное (2D) культивирование *in vitro*, не способны имитировать структурную организацию, подобную *in vivo*. Эти методы недостаточны для изучения таких особенностей, как клеточные взаимосвязи, клеточная морфология, жизнеспособность, пролиферация, дифференцировка, экспрессия генов и белков, реакция на стимулы и метаболизм лекарств и вакцин. Следует учитывать и тот факт, что доклинические исследования *in vitro* по оценке иммуногенности вакцинных

препаратов необходимо тестировать методами, помимо прочего включающими компоненты иммунной системы, что позволяет приблизиться к естественным условиям развития инфекции [64].

Несмотря на использование доступных клеточных линий многие вирусы — например, вирус Норфолк (*Picornavirales: Caliciviridae, Norovirus*), бокавирусы (*Piccovirales: Parvoviridae, Bocaparvovirus*) или вирус гепатита С (*Amarillovirales: Flaviviridae, Hepacivirus*) — пока не поддаются продуктивной репликации на 2D моделях *in vitro* [5, 9]. Некоторые вирусы гораздо эффективнее репродуцируются на моделях уровня целого организма, нежели в клеточных культурах: например, фитовирусы¹ (в целом растении) [10, 20], большинство арбовирусов² (при интрацеребральном заражении мышат-сосунков) [4, 73] или вирусы гриппа А (при заражении в аллантоисную полость развивающихся куриных эмбрионов) (*Articulavirales: Orthomyxoviridae, Alphainfluenzavirus*) — причем, как птичьих [1, 17], так и эпидемических³ штаммов [3, 23]. Ряд вирусов успешно пассируется на клеточных линиях в формате 2D, но по этическим или экономическим соображениям не могут быть исследованы

¹ Фитовирусы — внетаксономическая группа вирусов, поражающих растения.

² Арбовирусы — внетаксономическая группа вирусов, которые распространяются путем биологической трансмиссии в популяциях позвоночных хозяев кровососущими членистоногими.

³ До сих пор большинство противогриппозных вакцин изготавливается на основе вирусных штаммов, накопление которых производится на модели развивающихся куриных эмбрионов.

в контролируемых экспериментах на модели инфицированного организма и потому нуждаются в промежуточных 3D моделях: например, вирусы иммунодефицита человека 1-го и 2-го типов (*Ortervirales: Retroviridae, Lentivirus*) [24, 63]. Во время пандемии COVID-19 — несмотря на то что возбудитель этого заболевания, SARS-CoV-2 (*Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus, подрод Sarbecovirus*), способен эффективно репродуцироваться и в клеточных культурах, и во многих животных моделях [14, 15] — потребовалась массовая работа с экспериментальными животными, однако имеющихся лабораторных мощностей оказалось недостаточно, а 2D культуры не могли адекватно имитировать взаимодействие вируса с клетками и патогенетическую картину заболевания на уровне тканей [52, 54]. Для получения наиболее надежных и реалистичных результатов модель клеточной культуры, используемая в качестве тест-платформы, должна работать аналогично моделям *in vivo*. Такой платформой является трехмерное (3D) культивирование клеток и получение 3D-культуры органов [89, 97].

Одним из наиболее важных различий между методами 2D- и 3D-культивирования является то, что в 2D культуре клетки распластываются на субстрате в неестественном состоянии, то есть меняется морфология клеток, в то время как клетки, реплицированные в 3D формате на биологическом или синтетическом каркасном материале, сохраняют нормальную морфологию. Значительно различается при 2D- и 3D-культивировании уровень экспрессии и расположение мембранных рецепторов. Это напрямую влияет на многие параметры, в частности, на взаимодействие вируса с хозяином. Клетки в монослое подвергаются стрессу, в связи с чем некоторые экспрессируемые гены и белки претерпевают изменения и искажают реакцию на тестируемые препараты или вакцинные композиции [36, 61, 62].

Первые исследования по культивированию органов и тканей относятся к концу прошлого века, когда в 1897 г. немецкий ученый В. Лоеб опубликовал данные о культивировании фрагментов щитовидной железы, почек и печени, яичников кролика. Органы извлекались хирургическим путем, готовились срезы тканей из органов, культивировались на кровяных сгустках плазмы и сохранялись для последующего использования *in vitro*. С середины прошлого столетия органные культуры нашли применение в вирусологических исследованиях. В настоящее время использование органных культур в вирусологии значительно расширилось в связи с появлением новых технологических возможностей и разработкой 3D-клеточных культур. Основными аспектами их применения являются культивирование и изучение репродукции вирусов человека и животных, изуче-

ние механизмов возникновения и развития вирусных инфекций, разработка и тестирование противовирусных препаратов и вакцин и др.

Цель обзора — охарактеризовать различные типы трехмерных (3D) клеточных культур и рассмотреть современные возможности и перспективы их использования в вирусологических исследованиях.

Методы получения культур органов и их типы

Главная задача культивирования органов — поддерживать архитектуру ткани и направлять ее на нормальное развитие. Для выращивания культуры органов, как правило, применяются те же среды, что и для культуры тканей, как жидкие, так и твердые. Начиная с 1930-х годов использовались такие методы, как подвешивание капель или культивирование на часовых стеклах. Этот метод заключается в культивировании эксплантата (небольшого кусочка живой ткани) на сгустке плазмы на часовом стекле, расположенном на влажной подушечке из ваты. В 1954 г. в качестве опоры для ватного листа или фильтра, пропитанного питательной средой, была использована металлическая сетка, поднимающая орган для роста на границе среды и воздуха.

В настоящее время, разработаны новые методы, которые позволяют клеткам расти в лабораторных условиях в сложной 3D архитектуре. Эти методы в основном делятся на две категории: методы без каркасов и методы, основанные на каркасах. Наиболее часто используемые методы 3D-культивирования без каркаса — это суспензионное культивирование клеток на неклеящихся пластинах или пластинах с ультранизким креплением, к которым относятся методы магнитной левитации и микрофлюидики. Эти методы основаны на том, что клетки собираются вместе, образуя сфероидальную структуру, тем самым облегчая формирование 3D клеточной структуры без каркаса. Несмотря на то что методы 3D-культивирования клеток без каркаса, как правило, быстрые и экономичные, их самым большим недостатком является отсутствие компонента экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ). Вследствие этого осуществляется только взаимодействие клетка–клетка, а взаимодействие клетка–ЭЦМ отсутствует [30].

При воспроизведении методов 3D-культивирования клеток на основе каркасов, в культуру добавляются компоненты ЭЦМ для получения внеклеточных компонентов, имитирующих естественную физиологическую среду. Для этой цели применяются коммерчески доступные каркасы или подходящие компоненты ЭЦМ. В качестве каркасов используются природные полимеры, такие как агар, альгинат,

коллаген, гидроксиапатит, а также биоразлагаемые синтетические полимеры, такие как поли(этиленгликоль) и поли-(лактид-ко-гликолид), имитирующие реальные ткани. Особое место занимают альгинатные и прочие гидрогели, представляющие собой трехмерные сети, состоящие из гидрофильных полимерных цепей, сохраняющих свою структуру за счет сшивки отдельных цепей. Благодаря широкому спектру природных и синтетических гидрогелей, подходящих для создания каркасов с заданными физиологическими и механическими свойствами, эффективно имитирующих ЭЦМ, они чрезвычайно полезны в области тканевой инженерии и разработки лекарств [67, 79]. Содержание ЭЦМ варьирует в зависимости от характеристик тканей и клеток, но сохраняются два его основных компонента — белки (коллаген, эластин, фибронектин, ламинин, фибриллин и т. д.) и протеогликаны (гепарансульфат, хондроитинсульфат и т. д.) [57]. Взаимодействие клеток друг с другом и с ЭЦМ очень важны с точки зрения клеточной полярности, играющей непосредственную роль во взаимоотношениях вирус-хозяин, поскольку это влияет на экспрессию соответствующего рецептора. По этой причине исследование гетерологичных 3D-культур клеток привлекает внимание как эффективный метод для вирусологических исследований.

Различают органные, органотипические и гистотипические 3D-культуры. Органная культура клеток — это целый орган или его репрезентативные части (небольшие фрагменты органов и тканей или тонкие срезы органов), сохраняющие исходную структуру, количественное и пространственное распределение клеток вне организма, максимально приближенные к таковым в условиях *in vivo*. Органотипическая культура — это 3D-культура высокой плотности, включающая комбинацию различных клеток в определенных пространственных соотношениях с возможностью взаимодействовать и поддерживать структурную целостность. Гистотипическая культура — 3D-культура клеток высокой плотности, способных нарастать несколькими слоями, их плотность приближается к плотности ткани *in vivo* и сохраняет частично или полностью все особенности ткани. Размноженные клетки гистотипической культуры выращивают отдельно до высокой плотности в трехмерной матрице или в суспензии до формирования трехмерных агрегатов. Главным отличием органотипической культуры от гистотипической является введение гетеротипического клеточного взаимодействия, включая диффузионные паракринные эффекты и передачу сигналов, вовлекающих ЭЦМ. Взаимосвязь клеток позволяет создать структурированное микроокружение, клеточную полярность и усиленную дифференцировку.

К 3D-культурам относятся органоиды и сфероиды, получаемые основанными на каркасах методами. Органоиды — это многоклеточные самоорганизующиеся органы, полученные из плюрипотентных клеток (ПК), включая индуцированные плюрипотентные клетки (иПК), а также из клеток опухолевой ткани [31, 40, 47, 94]. Органоиды как система культивирования — многообещающая модель между 2D- и 3D-культурами и моделями *in vivo*. Эта модель позволяет исследовать сигнальные пути и редактировать геном клеток в тканевом микроокружении, обычно состоящем из разнообразных и сложных физических/химических взаимодействий между множеством тканеспецифичных типов клеток, стволовых клеток, клеток иммунной системы, стромальных клеток, а также растворимых факторов и ЭЦМ, но при этом лишена многих недостатков живой системы *in vivo*. Органоиды можно поддерживать в течение длительного времени, генетически модифицировать и криоконсервировать, сохраняя их фенотипические характеристики. Основной характеристикой органоида является имитация организации, функциональности и генетической специфичности конкретной ткани или органа *in vivo* [31, 32, 56, 65, 87]. Другими словами, органоиды представляют собой миниатюрные и упрощенные версии органов (мини-органы), способные в значительной степени воспроизводить структуру и физиологию органов человека. На сегодняшний день разработаны органоидные модели различных органов (кишечника, желудка, пищевода, печени, поджелудочной железы, почек, мочевого пузыря, легких, головного мозга, сетчатки, яичников, предстательной железы и др.).

Сфероиды — 3D-клеточные культуры, образующие в процессе пролиферации сфероподобные образования. Система сфероидной 3D-культуры позволяет клеткам расти и дифференцироваться в нескольких направлениях. Сфероиды представляют скопления клеток широкого спектра действия (например, опухолевых или эмбриональных клеток, гепатоцитов, клеток нервной ткани). Название «сфероиды» основано на наблюдении, что клетки легкого хомьяка, выращенные в суспензии, формировали почти идеальную сферическую форму [38, 101]. Сфероиды могут быть получены либо гомогенно (из одного типа клеток), либо гетерогенно (из разных типов клеток). Для сфероидов в основном используются бессмертные клеточные линии. Сфероиды являются более экономичными и простыми в приготовлении структурами, их также называют «клеточными агрегатами» или «органотипической культурой» [102]. Как органоиды, так и сфероиды преимущественно используются при моделировании заболеваний, а также для культивирования вирусов и в исследованиях вакцин и лекарственных препаратов.

Другим типом 3D-культуры является «орган-на-чипе». Это система для микропроточного (микрофлюидного) культивирования, которая позволяет моделировать физиологическую среду органа или системы органов. Она включает в себя микроканалы, регулирующие потоки жидкости, структуру клеток, границы тканей и взаимодействие между тканью и органами. Микрофлюидные модели способны преодолеть недостатки вышеописанных моделей главным образом за счет пространственно-временной управляемости, регулирования потоков жидкости и газа, физиологического ограничения живой ткани, а также вследствие возможности высокопроизводительного анализа при меньших размерах выборки, что позволяет снизить стоимость исследований [95]. В последние годы «органы-на-чипах» нашли применение в вирусологических исследованиях, в частности, при изучении взаимодействий вируса и хозяина, а также при разработке лекарственных препаратов и вакцин. На рынке представлены модели «орган-на-чипе», которые разрабатываются практически для каждого органа. Разработаны такие конструкции с датчиками для визуализации биологических и физиологических изменений [70].

Для получения трехмерных клеточных культур и моделей органоидов могут быть использованы биореакторы. Первоначально такие механические устройства, позволяющие регулировать биологические и/или биохимические процессы, были разработаны для минимизации влияния силы тяжести и обеспечения возможности скопления клеток в жидкой среде с образованием сфероидов. Благодаря способности тщательно отслеживать и обеспечивать контролируемые и воспроизводимые изменения конкретных факторов окружающей среды, биореакторы подходят для культивирования тканей *in vitro* [70, 78]. По сравнению с другими методами биореакторы подходят для крупномасштабного производства клеточных культур. Наиболее важным преимуществом биореакторов перед другими методами является то, что они обеспечивают одинаковые физические условия для всех клеток в динамичной среде. Вследствие непрерывного перемещения резервуаров биореактора, питательные вещества могут доставляться к клеткам различными способами. Биореакторный подход часто используется в исследованиях взаимодействий патоген-хозяин, так как позволяет сохранять экспрессию клеточных поверхностных молекул, принимающих непосредственное участие в проникновении вирусов в клетки. Биореакторы также могут использоваться в целях скрининга противовирусных препаратов в доклинических исследованиях [70, 78].

В качестве трехмерной модели клеток в последнее время большое внимание привлекает модель 3D-биопечати благодаря имитации фи-

зиологических условий, сложной архитектуры органов и микроокружения тканей по сравнению с другими моделями. Высокое разрешение, получаемое с помощью 3D-биопечати, обусловлено послойным расположением биологических материалов, биохимических веществ и живых клеток для изготовления тканевых структур. 3D-структуры, распечатанные на биопринтере, широко применяются при изучении инфекционных заболеваний, позволяя исследовать взаимодействие патоген–хозяин, а также при производстве и испытании эффективности вакцин и разработке лекарственных препаратов [66, 70, 89]. Используется несколько методов 3D-биопечати, наиболее распространенными из которых являются экструзия, струйная печать, лазерная обработка, стереолитография. Наиболее широко применяемым является метод экструзионной биопечати вследствие его удобства и низкой стоимости. В вирусологических исследованиях часто требуется моделировать различные условия и определенные клеточные линии, специфичные для каждого типа вируса. Благодаря избирательности лежащих в основе 3D-печати факторов, технология биопечати позволяет создавать широкий спектр тканей, которые являются точными 3D-моделями *in vitro* в зависимости от типа вируса [34, 42, 66]. Например, сообщается о 3D-биопечати человеческих моделей для исследования вируса гриппа А с использованием каркаса, состоящего из 2% альгината и 3% желатина, дополненного 20% матригелем [34].

Органые культуры в вирусологии

Вирусы — облигатные внутриклеточные паразиты, которым для репликации требуются живые клетки. Культивирование клеток для размножения и идентификации вирусов является важным разделом работы вирусологической лаборатории. Многочисленные работы последних лет свидетельствуют, что использование культур органов и 3D-культур позволяет изучать множество аспектов вирусной инфекции (рис., II обложка) [33, 65, 92, 101].

Поскольку модели 3D-клеточных культур могут быть сконструированы по-разному в зависимости от задач исследования и типа вируса, они применимы для широкого спектра вирусов. В значительной степени требованиям лабораторных моделей в вирусологических исследованиях соответствуют органоиды. Их органоидоподобная структура способствует усилению вирусной тропности и увеличению вероятности развития вирусной инфекции. Органоиды также представляют собой незаменимую модель для межвидовой проверки новых вирусов. Применение органоидов значительно расширило спектр вирусологических исследований, касающихся челове-

ка [65, 92, 101]. Прежде всего, органоидные модели применяют для выделения, культивирования и изучения репродукции вирусов человека и животных, которые проявляют сродство к определенным тканям органов. Например, Hui K.P.Y. с соавт. (2018) пришли к выводу, что органоиды дыхательных путей человека с реснитчатым эпителием обеспечивают родственную физиологическую модель и могут быть использованы для изучения тропизма и способности к размножению вирусов респираторных инфекций [58]. Культуры органов с реснитчатым эпителием успешно используются для культивирования вирусов гриппа (*Articulavirales: Orthomyxoviridae*) типов А (*Alphainfluenzavirus*), В (*Betainfluenzavirus*) и С (*Gammainfluenzavirus*); герпеса 1-го и 2-го типов (*Herpesvirales: Herpesviridae, Simplexvirus*); респираторно-синцитиального вируса человека (*Mononegavirales: Pneumoviridae, Orthopneumovirus*); парагриппа (*Mononegavirales: Paramyxoviridae*) 1-го, 3-го (*Respirovirus*), 2-го, 4-го (*Rubulavirus*) типов; Коксаки А21, полиовируса, риновирусов, эховируса 11 (*Picornavirales: Picornaviridae, Enterovirus*) [37]. Для вирусологических исследований респираторных инфекций сконструированы различные 3D-модели легких человека. Например, разработана 3D-модель «бронхосфер» человека на основе популяции первичных бронхоальвеолярных эпителиальных клеток [83], а также 3D-культура органоидов на основе этих же клеток, которые культивировались совместно с микрососудистыми эндотелиальными клетками легких и фибробластами легких [95].

Интенсивно используются органоиды различных органов в качестве моделей для исследования вирусов с тропизмом к соответствующим тканям. Например, с использованием линии эмбриональных ПК (WA09) разработана система кишечных органоидов человека и успешно протестирована для культивирования ротавируса человека (*Reovirales: Sedoreoviridae, Rotavirus*). Авторы отмечают, что репликация ротавируса в этой системе была примерно в 10 раз выше по сравнению с традиционным методом культивирования при использовании линии эпителиальных клеток обезьян [46]. Кишечные энтероиды человека использованы в качестве системы ранее некультивируемого вируса Норфолк. В системе кишечных энтероидов этот вирус реплицировался в интервале 1–24 ч после заражения, а компонент желчи 9а был установлен в качестве критически необходимого для его репликации [45].

Наибольшую значимость органные культуры приобрели при изучении особенностей иммуннопатогенеза респираторных вирусных инфекций. В настоящее время разработано несколько моделей для изучения инфекции вирусов гриппа А, В, С, включая модели тканей животных и че-

ловека *ex vivo* и 3D-модели клеточных культур. Первый шаг в разработке и создании полной 3D-модели легких человека ознаменовала работа, в которой использовалась модель первичных эпителиальных клеток дыхательных путей человека на 3D-хитозан-коллагеновом каркасе для определения иммунофенотипа штаммов вируса гриппа А субтипов H1N1 и H3N2 [35]. Berg J. с соавт. (2018) пришли к выводу, что кластерная картина инфекции в 3D-культуре больше напоминает естественный биологический процесс, наблюдаемый в легких человека, по сравнению с развитием инфекции в 2D-культуре. Кроме того, распечатанные на 3D-принтере клетки индуцировали базовый иммунный ответ с высвобождением противовирусного IL-29 (IFN λ 1) [34]. Si L. с соавт. (2019) разработали микрофлюидный чип дыхательных путей человека, в котором продемонстрировали репликацию вируса гриппа А и его патогенетическое воздействие на клетки хозяина. Результаты практического применения разработки показали, что такой чип может быть альтернативным доклиническим инструментом для испытания противовирусных препаратов и вакцин [90].

Пандемия COVID-19, вызвавшая предельное напряжение системы здравоохранения во всем мире [7, 21], стимулировала широкое применение органоидов для исследования механизмов репродукции вирусов и их взаимодействия с хозяином, механизмов возникновения и развития заболевания и для дальнейших вирусологических исследований. Как известно, передача SARS-CoV-2 среди людей происходит главным образом при контакте с вирусосодержащими респираторными жидкостями, и эффективная передача инфекции может происходить через слизистые оболочки рта, носа или глаз [6, 14]. В связи с этим органоиды легких или органоидоподобный альвеолярный эпителий поддерживали репликацию SARS-CoV-2, что и наблюдается клинически *in vivo* [53, 92]. Органоиды печени и тонкого кишечника человека также поддерживают интенсивную репликацию SARS-CoV-2 и могут служить моделью для исследования этой инфекции [69, 91, 103].

Siddiqi H.K. с соавт. (2021) предположили, что для инфицирования крупных органов или тканей должны быть поражены капилляры, в связи с чем на основе ИПК были разработаны капиллярные органоиды человека и затем инфицированы SARS-CoV-2. Экспериментально продемонстрировано наличие вирусной РНК в органоидах кровеносных сосудов, содержание которой увеличивалось с 3-х по 6-е сутки, что указывает на активную репликацию вируса. Авторы подтвердили, что COVID-19 является сосудистым заболеванием и вызывает прямое повреждение эндотелия, опосредуя мультисистемную дис-

функцию [91]. Аналогичный эксперимент был проведен на органоидах почек человека. В обоих экспериментах инфицированные органоиды использовались для заражения клеток Vero E6, свидетельствуя, что органоиды кровеносных сосудов и почек могут вызывать инфицирование других тканей. При последующем добавлении человеческого рекомбинантного растворимого ангиотензинпревращающего фермента 2-го типа (АПФ-2), уровень инфицированности в органоидах снижался дозозависимым образом. Полученные с применением органоидных моделей данные внесли важную информацию в патогенез COVID-19. Кроме того, получен положительный ответ на вопрос, может ли ингибирование взаимодействия ключевого рецептора спайкового гликопротеина коронавируса АПФ-2 с SARS-CoV-2 быть вариантом лечения пациентов с COVID-19. Результаты исследования показали, что АПФ-2 может снизить вирусную нагрузку в клетках Vero E6 в 1000–5000 раз. После культивирования на клетках Vero E6 вирус секвенировали и установили, что hrsACE2 ингибирует прикрепление вируса к клеткам, и этот процесс является дозозависимым [77].

Способность SARS-CoV-2 вызывать вторичные инфекции во многих органах была подтверждена с использованием других органоидных моделей. В результате всестороннего анализа жизненного цикла SARS-CoV-2 показано, что органоиды толстой кишки способны инфицироваться, поддерживать репликацию и репликацию SARS-CoV-2 *de novo*. Также показана защитная роль IFNs III типа, специфичных для эпителия, на ранней стадии вирусной инфекции [93]. Полученные авторами данные свидетельствуют о прямом инфицировании кишечника и потенциальной передаче SARS-CoV-2 с фекалиями и обосновывают более длительное выявление SARS-CoV-2 в образцах кала во время клинического скрининга выздоравливающих пациентов. Monteil V. с соавт. (2020) подтвердили, что после первичного инфицирования эпителия дыхательных путей SARS-CoV-2 может распространяться системно на другие органы, такие как почки, печень, кишечник, яички, головной мозг и вызывать их дисфункцию [77].

С целью исследования воздействия SARS-CoV-2 на центральную нервную систему использованы органоиды человеческого мозга в качестве модели для выяснения восприимчивости мозга к этому вирусу. В результате исследования показано, что SARS-CoV-2 не реплицируется, но инфицирует кортикальную область органоидов головного мозга человека [60, 81].

Для изучения вторичного повреждения альвеолярно-капиллярного барьера и воспалительной реакции при коронавирусной инфекции разработана микромодель альвеолярного

чипа [102]. Аналогичным образом для моделирования повреждения кишечника и иммунного ответа при этой инфекции сконструирован «кишечник на чипе» [51]. Хотя в последнее десятилетие успешно используются модели с единичным органом на чипе, они все же являются неадекватными моделями для имитации сложности, функциональности и целостности человеческих органов. Так, например, поскольку фермент АПФ-2, являющийся специфической мишенью для SARS-CoV-2, экспрессируется в различных органах, идеальная модель для более точной имитации физиологической структуры внутренних органов должна включать все взаимодействующие друг с другом ткани [71]. Для решения этой проблемы используются модели с мультиорганным чипом (также известные как «человек-на-чипе»), которые обеспечивают интегрированные культивируемые клетки различных органов и тканей с использованием микрофлюидных каналов. Такие модели подходят для вирусологических исследований, особенно для разработки лекарств и вакцин [89, 92]. Несмотря на то что мультиорганные чипы пока еще имеют многочисленные проблемы, на сегодняшний день ведутся широкие разработки с использованием 2, 3 и даже 10 органных чипов, что увеличивает возможности вирусологических исследований [92, 100]. Вслед за разработчиками этих моделей можно полагать, что за мультиорганными типами органоидов стоят большие перспективы применения в вирусологии.

Среди распространенных респираторных вирусов два пневмовируса представляют угрозу для жизни человека в группах высокого риска: респираторно-синцитиальный вирус и метапневмовирус человека (*Mononegavirales: Pneumoviridae, Metapneumovirus*) являются наиболее частыми этиологическими агентами острых инфекций нижних дыхательных путей, а именно бронхолиты и пневмонии, и являются причиной примерно 50% случаев госпитализации в педиатрической практике [8, 82]. В ряде эпидемиологических исследований сообщается о частых случаях совместного выявления этих вирусов у пациентов [72, 76], в связи с чем необходимо было выяснить механизмы взаимодействия этих вирусов, приводящие к обострению заболевания. Кроме того, на сегодняшний день не существует одобренных противовирусных препаратов или вакцин против этих заболеваний. Chen Y.W. с соавт. (2017) впервые применили модели органоидов легких человека для исследования респираторно-синцитиального вируса человека [37]. Geiser J. с соавт. (2021) провели исследования при моно- и коинфицировании этими вирусами с применением 3D-культур эпителия дыхательных путей: респираторно-синцитиальный вирус человека оказался менее патогенен по сравнению с мета-

пневмовирусом человека, но более чувствителен к действию интерферонов. Нейтрализация IFN I и III при коинфекции частично предотвращала ингибирование репродукции одного вируса другим и значительно увеличивала количество коинфицированных клеток в ткани [49]. Таким образом, в этой работе дано новое представление о взаимодействии пневмовирусов (вирус–хозяин и вирус–вирус) в эпителии дыхательных путей, подчеркиваются различия в патогенезе этих инфекций и предполагается участие клеток врожденного иммунитета во взаимодействиях вирус–хозяин и вирус–вирус при одиночном и двойном инфицировании. Работа этих авторов относится к числу первых исследований одиночного и двойного инфицирования на модели *ex vivo*, которая морфологически и функционально близка к эпителию дыхательных путей и представляет собой наиболее верный подход к изучению вирусных респираторных инфекций человека.

В рамках одного обзора не представляется возможным проанализировать обширные материалы по применению органных культур при изучении инфекций, вызываемых вирусами гепатита А (*Picornavirales: Picornaviridae, Hepatovirus*), В (*Blubervirales: Hepadnaviridae, Orthohepadnavirus*) и С (*Amarillovirales: Flaviviridae, Hepacivirus*); цитомегаловирусом человека (*Herpesvirales: Herpesviridae, Cytomegalovirus*); папилломавирусом (*Zurhausenvirales: Papillomaviridae, Alphapapillomavirus, Betapapillomavirus, Gammapapillomavirus, Mupapillomavirus* и *Nupapillomavirus*); вирусом Зика (*Amarillovirales: Flaviviridae, Flavivirus*) и некоторых других.

Изучение молекулярных механизмов патогенеза вирусных инфекций

Органоиды представляют собой ценную модель для изучения молекулярно-биологических особенностей возбудителей инфекционных заболеваний, имеющих эпидемиологическое значение. Триггером для таких исследований, как и по ряду других направлений, послужила пандемия коронавирусной инфекции. Природным резервуаром SARS-CoV-2 являются летучие мыши (*Chiroptera, Microchiroptera*) [14, 19], обладающие целым рядом уникальных особенностей: способностью к активному полету [25], эхолокацией [16, 29], богатым паразитомом [26, 27, 28] и мощной иммунной системой [25]. Вплоть до начала XX века эпидемический потенциал вирусов летучих мышей оставался недооцененным [11, 14]. Серьезный пересмотр представлений о степени биологической опасности со стороны бетакоронавирусов произошел в начале XXI века, когда в 2022 г. на территории Китая возникла масштабная эпидемия, связанная с коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-

CoV) из подрода *Sarbecovirus* (тогда промежуточными хозяевами при межвидовом переходе вируса от летучих мышей к человеку стали гималайские циветы (*Carnivora: Viverridae, Paguma* sp.)) [13], затем ряд эпидемических вспышек, вызванных коронавирусом Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) из подрода *Merbecovirus* (промежуточные хозяева — одногорбые верблюды-дромадеры (*Cetartiodactyla: Camelidae, Camelus dromedarius*)) [12] — крупнейшей в результате завозного случая стала эпидемическая вспышка в Республике Корея в мае–июле 2015 г. [18]. В конце 2019 г. SARS-CoV-2 преодолел межвидовой барьер и проник в человеческую популяцию, по-видимому, используя в качестве промежуточного хозяина панголинов (*Pholidota: Manidae*) [14, 15, 39, 68, 86], которые являются одним из наиболее массовых объектов нелегальной торговли в Юго-Восточной Азии в интересах восточной медицины [13]. Эволюционируя в человеческой популяции под действием коллективного иммунитета в результате инфекционного процесса и вакцинных мероприятий, SARS-CoV-2 сформировал несколько генотипов, различающихся по уровню контагиозности и патогенности [7]. В период пандемии вирус не только распространился по всей планете, но и получил возможность формировать вторичные природные очаги, проникая от людей в популяции животных. Наиболее известными примерами являются эпизоотические процессы среди американских норок (*Carnivora: Mustelidae, Neogale vison*) на зверофермах в Европе и Северной Америке, а также среди белохвостых оленей (*Cetartiodactyla: Cervidae, Odocoileus virginianus*) в Северной Америке [15]. В экспериментальных условиях SARS-CoV-2 вирус способен с различной степенью эффективности вызывать инфекцию у приматов (*Primates*), грызунов (*Rodentia*), зайцеобразных (*Lagomorpha*), кошачьих (*Carnivora: Felidae*), хорьков и норок (*Carnivora: Mustelidae, Mustelinae*), оленей (*Cetartiodactyla: Cervidae*). Менее чувствительными хозяевами SARS-CoV-2 являются куры (*Gallus gallus domesticus*), утки (*Anseriformes: Anatidae*), собаки (*Carnivora: Canidae*), свиньи (*Sus scrofa*) [6, 15].

По мнению многих авторов, по сравнению с клеточными культурами органные культуры позволяют более эффективно выявлять и характеризовать способность вирусов к межвидовым переходам, в том числе — адаптироваться к организму человека [81, 87, 92]. Подобная информация необходима для разработки научно-обоснованных мероприятий по предотвращению возникновения опасных эпидемических ситуаций. Так, получены кишечные органоиды (энтероиды) китайского рыжего подковоноса (*Chiroptera, Microchiroptera: Rhinolophidae, Rhinolophus sinicus*), чувствительность которых к SARS-CoV-2 намного выше, чем у клеточных культур. Эти же авторы

продемонстрировали интенсивную репликацию SARS-CoV-2 в органоидах кишечника человека и выделение активного вируса из образца кала пациента с COVID-19 при диарее [104]. Развитие желудочно-кишечных симптомов у некоторых пациентов с COVID-19 и обнаружение вирусной РНК в образцах кала позволили считать, что кишечный тракт человека может служить одним из путей передачи SARS-CoV-2, и этот вирус может вызывать кишечную инфекцию в дополнение к респираторной [104].

В настоящее время ни в одном вирусологическом исследовании не сообщалось об использовании межвидовых органоидов для определения межвидовой восприимчивости новых вирусов животных и зоонозов, однако, как считает ряд авторов, такие исследования необходимы [23, 81, 87, 92]. Разработка межвидовых органоидных культур на основе клеток человека и животных способна обеспечить эффективную биологическую систему для подтверждения зоонозного потенциала вновь появляющихся вирусов. Межвидовые органоиды позволяют культивировать новые вирусы, не поддающиеся выращиванию в клеточных линиях [99].

В этой связи исследования с использованием органоидов человека оказались эффективными для изучения видоспецифической восприимчивости вируса гриппа А [56], обладающего высоким уровнем экологической пластичности и широким спектром потенциальных хозяев (в том числе среди млекопитающих) [8, 17, 22, 50]. Органоиды дыхательных путей человека, содержащие основные типы эпителиальных клеток дыхательных путей, включая реснитчатые, бокаловидные, клубочковые и базальные клетки, позволили выявить различную инфекционность новых вариантов вируса гриппа А, особенно птичьего и эпидемического происхождения. Как показано в ряде исследований, органоиды дыхательных путей человека ведут себя аналогично культивируемым эксплантам бронхов *ex vivo*. Это касается тканевого/клеточного тропизма, размножения вируса и цитокинового ответа на инфекцию [56]. Потенциал органоидов человека для изучения зоонозных угроз существующих и вновь появляющихся вирусов значительно усиливается благодаря возможности криоконсервирования [43].

Разработка и тестирование лекарственных противовирусных препаратов и вакцин

В настоящее время важнейшим аспектом использования 3D-культур является тестирование лекарственных противовирусных препаратов и вакцин. Если рассматривать шире

вопросы оценки эффективности препаратов, использование этой модели является многообещающим подходом не только в разработке и тестировании лекарств, но и в целом стратегии персонализированной медицины.

Типичный процесс скрининга новых лекарственных соединений начинается с исследований на основе 2D-культуры клеток, за которыми следуют тесты на животных моделях и, наконец, клинические испытания, при этом только 10% субстанций успешно их проходят. Многие фармацевтические препараты не выдерживают клинических испытаний, особенно на III, самой дорогостоящей стадии исследований, обычно потому, что эти препараты не работают или имеют серьезные побочные эффекты [33]. 3D-культуры клеток предоставляют альтернативные модели, которые дополняют существующие экспериментальные системы для разработки новых продуктов для диагностики, профилактики и лечения инфекционных заболеваний. Высокая точность, воспроизводимость и экономическая эффективность 3D-культивирования клеток обеспечивают мощный инструмент скрининга лекарств и обладают огромным потенциалом для валидации лекарств и их мишеней. Такие модели эффективно используются для пересмотра механизмов действия и выяснения сигнальных путей действия лекарственных препаратов в отношении различных вирусов, ранее охарактеризованных с применением традиционных методов культивирования [33, 55]. Так, органоидная модель эпителиальных клеток дыхательных путей человека использована для оценки терапевтического эффекта осельтамивира в отношении вируса гриппа А, коронавируса SARS-CoV-2 и других вирусов, вызывающих ОРЗ [48]. При тестировании на органоидах эпителия носа и бронхов ремдесивир и ремдесивир-дилтиазем оказались эффективны против коронавирусной инфекции [80], а модель органоидов легких, экспрессирующих АПФ-2 и способных поддерживать инфекцию SARS-CoV-2, была успешно использована для скрининга противовирусных препаратов (иматиниба, атебрина, микофеноловой кислоты) [53]. По мнению некоторых авторов, технология «орган-на-чипе», ставшая особенно популярной за последние 10 лет и позволяющая получить желаемый искусственный орган для оценки влияния лекарственных препаратов, наиболее пригодна для тестирования лекарств и, следовательно, реализует подход к персонализированной медицине [59, 95].

Несмотря на широкое использование органоидов для высокопроизводительного скрининга лекарств, авторы обзора [94] отмечают, что идеальным вариантом для персонализированной медицины является технология PDO (patient-derived organoid), что значительно об-

легчает тестирование лекарственных препаратов и генетический скрининг. Tayeb S. с соавт. (2020) акцентируют внимание на том, что использование PDO помогает точнее идентифицировать траекторию лечения для конкретного пациента [96]. С этой целью разработка органоидных биобанков в отношении различных заболеваний может оказать огромное влияние на индустрию разработки лекарств и представляет интересное и важное направление практической медицины в ближайшем будущем [94].

Разработка вакцин, как и лекарственных препаратов — долгий и дорогостоящий процесс, который может продолжаться несколько лет. Прежде чем выйти на рынок, вакцина должна пройти ряд этапов, включающих базовые лабораторные исследования возбудителя, доклинические исследования (*in vitro* и *in vivo*) и клинические испытания. До настоящего времени доклинические исследования по разработке вакцин преимущественно осуществляются с применением традиционных клеточных культур *in vitro* и с использованием животных как единственной модели для доклинических испытаний *in vivo*, демонстрирующих эффективность вакцины. Однако основной проблемой в этих исследованиях является неадекватная имитация биологической системы организма с помощью доклинических тестов, доступных в настоящее время и используемых для оценки иммуногенности и токсичности вакцин [68, 97]. Иммуногенность вакцины — чрезвычайно сложный процесс, в котором участвуют разнообразные клеточные и гуморальные факторы иммунитета. Только имитируя биологические компоненты *in vitro*, можно и необходимо изучить этот процесс в доклинических исследованиях. В свете этого доклинические исследования вакцины должны быть протестированы методами, включающими в первую очередь компоненты иммунной системы [64].

Для устранения этих недостатков, касательно разработки и тестирования вакцин, в последние годы также применяются технологии 3D-культивирования клеток. Учитывая, что органоиды получены из клеток человека, процесс адаптации вирусов в этой системе не является необходимым, при этом у вирусного генома отсутствует либо относительно низок потенциал индуцирования генетических мутаций. Кроме того, отсутствует потенциальный риск неблагоприятного воздействия белков из клетки-хозяина нечеловеческого происхождения, что может быть еще одним достоинством органоидов как системы культивирования вакцинных штаммов [70, 97].

Уже первые исследования показали возможность производства противовирусных вакцин на основе органоидов для широкого спектра

вирусов. Так, на органоидах миндалин человека произведена оценка иммуногенности вакцин против вируса гриппа А и В, кори, эпидемического паротита, бешенства и кандидатной вакцины против SARS-CoV-2 на основе векторного AdV5. В частности, показано, что через 14 дней после вакцинации органоидов гриппозной вакциной выявлены повышенные уровни специфических IgG и IgA, а также значительное усиление активации CD8⁺ Т-клеток по сравнению с контрольной группой [98]. Другие органоиды (кишечника, желудка, пищевода, печени, почек, легких, головного мозга и др.) также интенсивно применяются в качестве продуктивных систем для вирусных вакцинных штаммов и тестирования противовирусных вакцин. Например, органоиды головного мозга используют в отношении вируса Зика [41], органоиды легких — респираторно-синцитиального вируса [37], человеческие интестиноиды — ротавируса человека [46].

Органоиды особенно эффективны для тестирования вакцин против ряда представителей некультивируемых вирусов: гепатита С, ротавируса, норовируса. Использование органоидов также позволяет прогнозировать нежелательные побочные эффекты и/или недостаточные иммунные реакции вакцин, тем самым экономя время и деньги и избегая ненужных исследований *in vivo*.

Преимущества и перспективы применения 3D-клеточных культур в вирусологии

Органоиды более эффективно по сравнению с естественно инфицированными образцами тканей воспроизводят вирусные инфекции в лабораторных условиях [85]. Кроме того, на органоидах возможно культивирование вирусов, которые не поддаются выращиванию в культурах клеток, что нами отмечено выше. К таким случаям относится невозможность найти подходящие клеточные линии для репликации и накопления вируса дикого типа, вызывающего инфекцию *in vivo*. В отличие от клеточных культур, органоиды представляют собой удобную альтернативу для культивирования таких вирусов в лабораторных условиях. Органоидные системы являются высокоинформативными и позволяют изучать взаимодействие вирус-хозяин в более реалистичных условиях, чем в монослое. Кроме того, органоиды расширяют возможности системы культивирования для поддержки репликации множества вирусов (включая патогены других типов), имеющих разный клеточный тропизм, что способствует изучению взаимодействия между коинфицированными агентами и хозяином. Такого рода мо-

дели коинфекции (микст-инфекции) в большей мере отражают сложные процессы при естественном инфицировании. Использование органоидов для моделирования вирусных микст-инфекций способствует лучшему пониманию патологических процессов и разработке комплекса терапевтических мероприятий при синдромах или комплексах заболеваний, вызываемых несколькими видами вирусов, что обычно наблюдается в пищеварительном, респираторном и репродуктивном трактах [56, 65, 75, 92].

К преимуществам использования органоидов следует добавить также их потенциальную способность демонстрировать клинические признаки, наблюдаемые при естественных вирусных инфекциях. Например, инфицирование вирусом Зика приводило к уменьшению размера органоидов человеческого мозга, имитируя микроцефалию, вызванную вирусом *in vivo*. Исследования с использованием органоидов человеческого мозга также способствовали пониманию нейротропизма и патогенеза других нейротропных вирусов, включая вирус простого герпеса и цитомегаловирус у новорожденных, вызывающий обширные неврологические дефекты, такие как микроцефалия [44]. Кроме того, к преимуществам относится возможность широкого применения органоидных моделей в процедурах скрининга лекарств, что способствует разработке эффективной стратегии лечения при вирусной инфекции [42, 44, 92] и производства вакцин [70, 97]. Также применение органоидов в вирусологических исследованиях позволяет избегать ряд этических проблем, возникающих при использовании животных.

Что касается перспектив и задач, особую необходимость представляет разработка межвидовых органоидных культур в вирусологических исследованиях, их видоспецифическая оптимизация и характеристика [31, 56, 65]. В перспективных планах значится настоящая потребность в респираторно-легочных органоидах для моделирования респираторных вирусных инфекций у животных, что будет способствовать увеличению объема исследований респираторных инфекций [74, 84]. Также крайне важно адаптировать технологию органоидов человека и разработать системы органоидов животных для различных типов органов с целью изучения новых вирусных зоонозов [40, 47, 65]. Как подчеркивают авторы ряда пилотных исследований и авторитетных обзоров, разработка межвидовых органоидных культур, особенно для эффективного изучения цикла заражения эпизоотическими и зоонозными вирусами у различных видов домашних и диких животных, а также и человека, приведет к значительному продвижению вирусологических исследований [31, 56, 65, 85].

Для решения этих задач предложено несколько подходов [85]. Во-первых, для включения иммунных и стромальных клеток эпителиальные органоиды могут культивироваться совместно со стромальными клетками, иммунными клетками (макрофаги, дендритные клетки и Т-клетки) и даже с популяцией клеток кровеносных сосудов или лимфатических узлов. Используя такую систему совместного культивирования, ряд авторов уже успешно продемонстрировал взаимодействие эпителиальных и иммунных клеток в осуществлении противовирусных ответов [56]. Во-вторых, для включения различных органотипических функций может быть использована система «орган-на-чипе», основанная на редуционистском инженерном подходе к культивированию клеток основных тканей; при этом для культивирования клеток используется микрожидкостный 3D-чип. Такая мультисистемная структура органоидов может быть пригодна для исследования иммунометаболического и иммуноневрологического взаимодействия, имеющего место в регуляции противовирусного ответа [31, 56]. В-третьих, с помощью передовых технологий органоидной инженерии могут быть разработаны мультиорганоидами, включающие различные физиологические ниши, такие как компоненты иммунной системы и/или микробиоты [55, 56, 75].

Задача по включению ниш иммунной системы и/или микробиоты в органоидные системы требует особого внимания. Необходима обновленная характеристика вклада микробиома в формирование вирусных инфекций и противовирусного иммунитета. Так, энтероиды человека были восприимчивы к заражению несколькими энтеровирусами, включая эховирус 11, Коксаки В и энтеровирус 71. Однако способность индуцировать вирусоспецифические противовирусные и воспалительные реакции зависела от клеточного состава энтероидов. По мнению авторов, энтероиды обеспечивают экологический центр для характеристики вирусоспецифического патогенеза, который также включает противовирусные реакции в присутствии микробиома [56, 92]. Микробиота как важная часть микроокружения кишечного эпителия оказывает влияние на физиологию хозяина и реакцию иммунной системы, регулируя молекулярные и клеточные механизмы путем взаимодействия с рецепторами на поверхности клеток-хозяев, а также за счет продуктов метаболизма [32, 87]. Различные технологии позволяют объединить микробиоту с органоидной технологией. Например, введение путем микроинъекции штамма *Escherichia coli* ECOR2 (факультативного анаэроба нормальной микрофлоры кишечника) в просвет кишечных органоидов, полученных из гемопоэтичес-

ких плюрипотентных клеток, способствовало улучшению барьерной функции и целостности кишечного эпителия [55].

Важной проблемой, требующей решения, является стандартизация органоидных систем. Поскольку большинство протоколов получения органоидов основаны на самоорганизации стволовых клеток, органоиды могут отличаться от партии к партии. Кроме того, затруднено обслуживание и отслеживание очень сложных органоидных моделей. Необходимо разработать метод, позволяющий надлежащим образом дополнять их питательными веществами и кислородом и удалять отработанные вещества. В этой связи имитация или воссоздание сосудистой системы должно быть приоритетом при создании органоидов. Это позволит органоидам увеличиваться в размерах и сохраняться в течение более длительного периода времени и, следовательно, достигать большей зрелости на стадии своего развития [94].

Дальнейшие проблемы, связанные с применением органоидов в вирусологических исследованиях, требуют существенной межвидовой стандартизации и видоспецифической оптимизации условий культивирования органоидных культур на высокопроизводительной платформе. В этом аспекте проблематично использование разных вариантов разработанных в различных лабораториях исходных материалов и кондиционированных сред. Особую важность стандартные критерии и руководящие принципы приобретают при разработке органоидов для моделирования инфекционных заболеваний животных и человека [40, 56, 65]. Для использования в вирусологических и других целях после создания органоидной культуры ее необходимо охарактеризовать на предмет гетерогенности клеток и их дифференцировки (то есть экспрессии генов) в дополнение к динамическому мониторингу морфологии органоида, то есть дать молекулярную и клеточную характеристику, что также требует стандартизованных реагентов [81, 87, 92].

Также требуется унифицировать стандарты контроля качества в отношении сложной природы органоидных систем. В дополнение к существующим коммерческим форматам, разработанным в первую очередь для клеточных культур, для культивирования органоидов необходима разработка мультиплексных методов культивирования, что облегчит исследования в области системной вирусологии [56, 65, 92].

Следует остановиться и на недостатках и ограничениях современных органоидных систем и 3D-культур. Как отмечает ряд исследователей, органоидная технология и ее применение для моделирования заболеваний все еще находятся в зачаточном состоянии [56, 65, 87]. Существует

ряд технологических проблем, требующих их усовершенствования относительно применения в вирусологии. Одно из главных ограничений заключается в коротком сроке службы большинства органоидов и, как следствие, в их незрелости по сравнению со зрелыми органами *in vivo*. Учитывая необходимость моделирования вирусных инфекций во взрослом и даже в стареющем состоянии, могут потребоваться некоторые физические или биохимические стимулы для созревания органоидов [56, 65, 92]. Недавно разработанный протокол криоконсервации органоидов может физически увеличить продолжительность их существования [43].

Основной причиной сложности использования органных культур также является поддержание их структурной целостности, тщательного соблюдения специальных технологических инструкций и правил. Кроме того, их сложно готовить, они с трудом поддаются биохимическому и молекулярному анализу. Не существует охарактеризованного эталонного материала органных культур, в то время как биохимический мониторинг требует воспроизводимости образцов этих культур. Наиболее значимые проблемы использования органных культур связаны с гибелью внутренних слоев клеток в крупных органоидах из-за отсутствия васкуляризации. Наконец, трехмерные культуры не могут полностью заменить тестирование *in vivo*, например, на нокаутированных животных [105].

Заключение

Подводя итоги и оценивая преимущества и недостатки трехмерных 3D-клеточных культур, отметим, что с начала текущего столетия эти культуры широко используются в различных областях биомедицинских исследований и, в частности, в вирусологии.

Наиболее многообещающими типами культур для вирусологических исследований являются такие 3D-системы, как органоиды и «орган-на-чипе». Органоиды существенно расширили вирусологические исследования применительно к человеку. Органоидные системы используют самоорганизующиеся свойства стволовых клеток для моделирования многоклеточных аналогов тканей органов. Обладая промежуточными свойствами между обычной клеточной культурой и моделями на животных, органоиды имеют множество неоспоримых преимуществ применения в вирусологии и вызывают огромный интерес для моделирования заболеваний. Эти модели являются высокоинформативными для культивирования и изучения взаимодействий вирус–хозяин в отношении различных вирусов, а также служат наилучшими моделями для скрининга лекарств

и исследований по разработке вакцин. Также 3D-клеточные системы нашли применение для изучения различных проблем вирусологии.

Проведенный нами анализ результатов применения различных 3D-типов клеточных культур (органойды, микрофлюидные методы («орган-на-чипе»), модели с биопечатью) при исследовании высокопатогенных и смертельно опасных респираторных вирусов — вируса

гриппа А, SARS-CoV-2 и других вирусных инфекций показывает, что использование этих моделей способствует расширению сведений о патогенезе и выявлению оптимальных лекарственных препаратов и вакцин. В конечном итоге представленные данные важны для разработки средств профилактики вирусных инфекций и соответствующих методов лечения больных.

Список литературы/References

1. Дерябин П.Г., Львов Д.К., Исаева Е.И., Данлыбаева Г.А., Подчерняева Р.Я., Шелканов М.Ю. Спектр клеточных линий позвоночных, чувствительных к высокопатогенным вирусам гриппа А/крячка/Южная Африка/61 (H5N3) и А/крячка/Новосибирск/56/05 (H5N1) // Вопросы вирусологии. 2007. Т. 52, № 1. С. 45–47. [Deryabin P.G., Lvov D.K., Isaeva E.I., Danlybaeva G.A., Podchernyaeva R.Ya., Shchelkanov M.Yu. Spectrum of vertebrate cell lines sensitive to highly pathogenic influenza virus A/tern/South Africa/61 (H5N3) and A/tern/Novosibirsk/56/05 (H5N1). *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2007, vol. 52, no. 1, pp. 45–47. (In Russ.)]
2. Кацнельсон З.С. Клеточная теория в ее историческом развитии. Л.: Медгиз, 1963. 344 с. [Katsnelson Z.S. Cell theory in its historical development. *Leningrad: Medgiz*, 1963. 344 p. (In Russ.)]
3. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Шелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Лаврищева В.В., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Прилипов А.Г., Прошина Е.С., Авдеев С.Н., Суточникова О.А., Базарова М.В., Келли Е.И., Церукалова Н.Д., Бланк И.А., Шестакова О.М., Коливашко О.Н., Арсенева Т.В., Амброси О.Е., Шульдьяков А.А., Попов А.Ф., Симакова А.И., Малышев Н.А., Чучалин А.Г., Львов Д.К. Пандемический грипп в России: отличительные особенности клинического течения и отсутствие ранней этиотропной терапии как фактор риска развития тяжелых форм заболевания // Терапевтический архив. 2011. Т. 83, № 9. С. 48–53. [Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Lavrishcheva V.V., Samokhvalov E.I., Alkhovsky S.V., Prilipov A.G., Proshina E.S.S., Avdeev S.N., Sutochnikova O.A., Bazarova M.V., Kelly E.I., Tserukalova N.D., Blank I.A., Shestakova O.M., Kolivashko O.N., Arseneva T.V., Ambrosi O.E., Shuldjakov A.A., Popov A.F., Simakova A.I., Malyshev N.A., Chuchalin A.G., Lvov D.K. Pandemic influenza in Russia: distinctive features of the clinical course and the lack of early etiotropic therapy as a risk factor for the development of severe forms of the disease. *Terapevticheskii arkhiv = Therapeutic Archive*, 2011, vol. 83, no. 9, pp. 48–53. (In Russ.)]
4. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л., Давыдова А.А., Колобухина Л.В., Львов С.Д., Шелканов М.Ю. Атлас распространения возбудителей природноочаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации. М.: Изд-во НПЦ ТМГ МЗ РФ, 2001. 192 с. [Lvov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevsky V.L., Davydova A.A., Kolobukhina L.V., Lvov S.D., Shchelkanov M.Yu. Atlas of the distribution of pathogens of natural focal viral infections on the territory of the Russian Federation. *Moscow: Publishing house NPC TMG Ministry of Health of the Russian Federation*, 2001. 192 p. (In Russ.)]
5. Медицинская вирусология. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2008. 656 с. [Medical Virology. Ed. by D.K. Lvov. *Moscow: Medical Information Agency*, 2008. 656 p. (In Russ.)]
6. Никифоров В.В., Колобухина Л.В., Сметанина С.В., Мазанкова Л.Н., Плавунов Н.Ф., Шелканов М.Ю., Суранова Т.Г., Шахмарданов М.З., Бургасова О.А., Кардонова Е.В., Базарова М.В., Антипят Н.А., Серова М.А., Орлова Н.В., Забозлаев Ф.Г., Кружкова И.С., Кадышев В.А. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. Учебно-методическое пособие. М.: Департамент здравоохранения города Москвы, 2020. 71 с. [Nikiforov V.V., Kolobukhina L.V., Smetanina S.V., Mazankova L.N., Plavunov N.F., Shchelkanov M.Yu., Suranova T.G., Shakhmardanov M.Z., Burgasova O.A., Kardonova E.V., Bazarova M.V., Antipyat N.A., Serova M.A., Orlova N.V., Zabozaev F.G., Kruzhkova I.S., Kadyshv V.A. Novel coronavirus infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinics, diagnostics, treatment, and prophylaxis. Educational and methodological guide. *Moscow: Department of Public Health of Moscow City*, 2020. 71 p. (In Russ.)]
7. Попова А.Ю., Шелканов М.Ю., Крылова Н.В., Белик А.А., Семейкина Л.М., Запорожец Т.С., Смоленский В.Ю., Персиянова Е.В., Просянникова М.Н., Белов Ю.А., Иунихина О.В., Потт А.Б., Хомичук Т.Ф., Симакова А.И., Абрамова С.А., Романова О.Б., Детковская Т.Н., Крыжановский С.П., Беседнова Н.Н. Генотипический портрет SARS-CoV-2 на территории Приморского края в период пандемии COVID-19 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2024. Т. 101, № 1. С. 19–35. [Popova A.Yu., Shchelkanov M.Yu., Krylova Natalia V., Belik A.A., Semeikina L.M., Zaporozhets T.S., Smolenskiy V.Yu., Persianova E.V., Prosyannikova M.N., Belov Yu.A., Iunikhina O.V., Pott A.B., Khomichuk T.F., Simakova A.I., Abramova S.A., Romanova O.B., Detkovskaya T.N., Kryzhanovskiy S.P., Besednova N.N. Genotypic portrait of SARS-CoV-2 in Primorsky Krai during the COVID-19 pandemic. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2024, vol. 101, no. 1, pp. 19–35. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-497]
8. Пульмонология. Национальное руководство. Краткое издание / Ред.: А.Г. Чучалин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 768 с. [Pulmonology. National leadership. Short edition / Ed.: A.G. Chuchalin. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2020. 768 p. (In Russ.)]
9. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / Ред.: академик РАН Д.К. Львов. М.: МИА, 2013. 1200 с. [Guide to Virology. Viruses and viral infections of humans and animals / Ed.: Academician of the Russian Academy of Sciences D.K. Lvov. *Moscow: MIA*, 2013. 1200 p. (In Russ.)]
10. Толкач В.Ф., Какарека Н.Н., Волков Ю.Г., Козловская З.Н., Сапоцкий М.В., Плешакова Т.И., Дьяконов К.П., Шелканов М.Ю. Вирусные болезни овощных и бахчевых сельскохозяйственных культур на юге Дальнего Востока // Юг России: экология, развитие. 2019. Т. 14, № 4. С. 121–133. [Tolkach V.F., Kakareka N.N., Volkov Yu.G., Kozlovskaya Z.N.,

- Sapotsky M.V., Pleshakova T.I., Dyakonov K.P., Shchelkanov M.Yu. Viral diseases of vegetable and melon crops in the south of the Far East. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie = South of Russia: Ecology, Development*, 2019, vol. 14, no. 4, pp. 121–133. (In Russ.) doi: 10.18470/1992-1098-2019-4-121-133
11. Шестопалов А.М., Кононова Ю.В., Гаджиев А.А., Гуляева М.А., Васфи М.М., Алексеев А.Ю., Джамалутдинов Д.М., Щелканов М.Ю. Биоразнообразие и эпидемический потенциал коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) рукокрылых // Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15, № 2. С. 17–34. [Shestopalov A.M., Kononova Y.V., Gadzhiev A.A., Gulyaeva M.A., Vasfi M.M., Alekseev A.Yu., Jamalutdinov J.M., Shchelkanov M.Yu. Biodiversity and epidemic potential of Chiropteran coronaviruses (Nidovirales: Coronaviridae). *Yug Rossii: ekologiya, razvitie = South of Russia: Ecology, Development*, 2020, vol. 15, no. 2, pp. 17–34. (In Russ.)] doi: 10.18470/1992-1098-2020-2-17-34
 12. Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Ближневосточный респираторный синдром: когда вспыхнет тлеющий очаг? // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 2. С. 94–98. [Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. Middle East respiratory syndrome: when will smouldering focus outbreak? *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2015, no. 2, pp. 94–98. (In Russ.)]
 13. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (Nidovirales, Coronaviridae): возросший уровень эпидемической опасности // Лечащий врач. 2013. № 10. С. 49–54. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Human coronaviruses (Nidovirales, Coronaviridae): increased level of epidemic threat. *Lechashchiy vrach = The Attending Physician*, 2013, no. 10, pp. 49–54. (In Russ.)]
 14. Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 221–246. [Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G., Akimkin V.G., Maleev V.V. Research history of coronaviruses. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 221–246. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-H01-1412
 15. Щелканов М.Ю. Эtiология COVID-19 / В кн.: COVID-19: от этиологии до вакцинопрофилактики. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023. С. 11–53. [Shchelkanov M.Yu. Etiology of COVID-19/ In: COVID-19: from etiology to vaccination. A guide for doctors. Moscow: GEOTAR-Media, 2023, pp. 11–53. (In Russ.)] doi: 10.33029/9704-7967-4-COV-2023-1-288
 16. Щелканов Е.М., Уколов С.С., Дунаева М.Н., Москвина Т.В., Попов И.А., Белов Ю.А., Какарека Н.Н., Ганзевич А.В., Толкач В.Ф., Волков Ю.Г., Галкина И.В., Щелканов М.Ю. Эхолокация рукокрылых (Chiroptera Blumenbach, 1779) как элемент их экологической пластичности // Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15, № 4. С. 6–20. [Shchelkanov E.M., Ukolov S.S., Dunaeva M.N., Moskvina T.V., Popov I.A., Belov Yu.A., Kakareka N.N., Ganzevich A.V., Tolkach V.F., Volkov Yu.G., Galkina I.V., Shchelkanov M.Yu. Echolocation of bats (Chiroptera Blumenbach, 1779) as an element of their ecological plasticity. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie = South of Russia: Ecology, Development*, 2020, vol. 15, no. 4, pp. 6–20. (In Russ.)] doi: 10.18470/1992-1098-2020-4-6-20
 17. Щелканов М.Ю., Кириллов И.М., Шестопалов А.М., Литвин К.Е., Дерябин П.Г., Львов Д.К. Эволюция вируса гриппа А/Н5N1 (1996–2016) // Вопросы вирусологии. 2016. Т. 61, № 6. С. 245–256. [Shchelkanov M.Yu., Kirillov I.M., Shestopalov A.M., Litvin K.E., Deryabin P.G., Lvov D.K. Evolution of influenza A/H5N1 virus (1996–2016). *Voprosy Virusologii = Problems of Virology*, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 245–256. (In Russ.)] doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-6-245-256
 18. Щелканов М.Ю., Власов Н.А., Киреев Д.Е., Славский А.А., Гребенникова Т.В., Прилипов А.Г., Забережный А.Д., Алипер Т.И., Кирюхин С.Т., Петренко М.С., Крашенинников О.П., Непоклонов Е.А., Онищенко Г.Г., Дерябин П.Г., Львов Д.К. Клинические признаки заболевания у птиц, вызванного высокопатогенными вариантами вируса гриппа А/Н5N1, в эпицентре эпизоотии на юге Западной Сибири (июль 2005 г.) // Журнал инфекционной патологии. 2005. Т. 12, № 3–4. С. 121–124. [Shchelkanov M.Yu., Vlasov N.A., Kireev D.E., Slavsky A.A., Grebennikova T.V., Prilipov A.G., Zaberezhny A.D., Aliper T.I., Kiryukhin S.T., Petrenko M.S., Krasheninnikov O.P., Nepoklonov E.A., Onishchenko G.G., Deryabin P.G., Lvov D.K. Clinical symptoms of bird disease provoked by highly pathogenic variants of influenza A/H5N1 virus in the epicenter of epizooty on the South of Western Siberia. *Zhurnal infektsionnoi patologii = Journal of Infection Pathology*, 2005, vol. 12, no. 3–4, pp. 121–124. (In Russ.)] URL: <https://elibrary.ru/xhalux>
 19. Щелканов М.Ю., Дунаева М.Н., Москвина Т.В., Воронова А.Н., Кононова Ю.В., Воробьева В.В., Галкина И.В., Янович В.А., Гаджиев А.А., Шестопалов А.М. Каталог вирусов рукокрылых (2020) // Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15, № 3. С. 6–30. [Shchelkanov M.Yu., Dunaeva M.N., Moskvina T.V., Voronova A.N., Kononova Y.V., Vorobyova V.V., Galkina I.V., Yanovich V.A., Gadzhiev A.A., Shestopalov A.M. Catalogue of bat viruses (2020). *Yug Rossii: ekologiya, razvitie = South of Russia: Ecology, Development*, 2020, vol. 15, no. 3, pp. 6–30. (In Russ.)] doi: 10.18470/1992-1098-2020-3-6-30
 20. Щелканов М.Ю., Какарека Н.Н., Волков Ю.Г., Толкач В.Ф. Становление фитовирусологии на Дальнем Востоке в контексте развития отечественной вирусологии. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2022. 142 с. [Shchelkanov M.Yu., Kakareka N.N., Volkov Yu.G., Tolkach V.F. The formation of phytovirology in the Far East in the context of the development of domestic virology. *Vladivostok: FEFU Publishing House*, 2022. 142 p. (In Russ.)] doi: 10.24866/7444-5353-4
 21. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Бургазова О.А., Кружкова И.С., Малеев В.В. COVID-19: этиология, клиника, лечение // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 421–445. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Burgasova O.A., Kruzhkova I.S., Maleev V.V. COVID-19: etiology, clinic, treatment. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 421–445. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-CEC-1473
 22. Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Новый субтип вируса гриппа А от летучих мышей и новые задачи эколого-вирусологического мониторинга // Вопросы вирусологии. 2012. Прил. 1. С. 159–168. [Shchelkanov M.Yu., Lvov D.K. New subtype of influenza A virus from bats and new tasks for ecologo-virological monitoring. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2012, suppl. 1, pp. 159–168. (In Russ.)]
 23. Щелканов М.Ю., Львов Д.Н., Федякина И.Т., Баранов Н.И., Гореликов В.Н., Резник В.Я., Здановская Н.И., Пуховская Н.М., Авдошина Л.Н., Шапиро Н.П., Снеткова И.П., Кожан В.Н., Яровенко Г.М., Калаева Е.Е., Громова М.А., Еловский О.В., Еремеева Ю.В., Довгаль М.А., Кученков А.А., Ананьев В.Ю., Буртник В.И., Иванов Л.И., Гарбуз Ю.А., Подоляно И.А., Григорьев С.Н., Прошина Е.С., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Бурцева Е.И., Прилипов А.Г., Аббасова Е.И., Мироненко Е.С., Колобухина Л.В., Дерябин П.Г., Отт В.А., Маслов Д.В., Янович В.А., Львов Д.К. Динамика распространения пандемического гриппа А/Н1N1 sw1 на Дальнем Востоке в 2009 г. // Вопросы вирусологии. 2010. Т. 55, № 3. С. 10–15. [Shchelkanov M.Yu., Lvov D.N., Fedyakina I.T., Baranov N.I., Gorelikov V.N., Reznik V.Ya.,

- Zdanovskaya N.I., Pukhovskaya N.M., Avdoshina L.N.N., Shapiro N.P., Snetkova I.P., Kozhan V.N., Yarovenko G.M., Kalaeva E.E., Gromova M.A., Elovsky O.V., Ereemeeva Yu.V., Dovgal M.A., Kuchenkov A.A., Ananyev V.Yu., Burtnik V.I., Ivanov L.I., Garbuz Yu.A., Podolyanko I.A., Grigoriev S.N., Proshina E.S., Samokhvalov E.I., Alkhovskiy S.V., Burtseva E.I., Prilipov A.G., Abbasova E.I., Mironenko E.S., Kolobukhina L.V., Deryabin P.G., Ott V.A., Maslov D.V., Yanovich V.A., Lvov D.K. Dynamics of the spread of pandemic influenza A/H1N1 swl in the Far East in 2009. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2010, vol. 55, no. 3, pp. 10–15. (In Russ.)
24. Шелканов М.Ю., Пашкова Т.А., Сахурия И.Б., Папуашвили М.Н., Карамов Э.В. Анализ биологических характеристик первичных изолятов ВИЧ-1 с помощью метода главных компонент // Вопросы вирусологии. 1998. Т. 43, № 3. С. 117–121. [Shchelkanov M.Yu., Pashkova T.A., Sakhuriya I.B., Papuashvili M.N., Karamov E.V. Analysis of the biological characteristics of primary HIV-1 isolates using the principal component method. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 1998, vol. 43, no. 3, pp. 117–121. (In Russ.)]
 25. Шелканов М.Ю., Табакаева Т.В., Любченко Е.Н., Короткова И.П., Шелканов Е.М., Панкратов Д.В., Дунаева М.Н., Суровый А.Л., Кузнецова Т.А., Цыбульский А.В., Иунихина О.В., Кожушко А.А., Белов Ю.А., Уколов С.С., Дробот Е.И., Иванчук Г.В., Табакаев А.В., Жилин Р.А., Галкина И.В. Рукокрылые: общая характеристика отряда. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2021. 130 с. [Shchelkanov M.Yu., Tabakaeva T.V., Lyubchenko E.N., Korotkova I.P., Shchelkanov E.M., Pankratov D.V., Dunaeva M.N., Surovy A.L., Kuznetsova T.A., Tsybul'skiy A.V., Iunikhina O.V., Kozhushko A.A., Belov Yu.A., Ukolov S.S., Drobot E.I., Ivanchuk G.V., Tabakaev A.V., Zhilin R.A., Galkina I.V. Chiropterans: general characteristic of the order. *Vladivostok: Far Eastern Federal University*, 2021. 130 p. (In Russ.)] doi: 10.24866/7444-5119-6
 26. Шелканов М.Ю., Табакаева Т.В., Шелканов Е.М., Алиев М.Р., Толкач В.Ф., Какарека Н.Н., Масловский К.С., Волков Ю.Г., Галкина И.В. Насекомые-эктопаразиты рукокрылых. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2022. 242 с. [Shchelkanov M.Yu., Tabakaeva T.V., Shchelkanov E.M., Aliyev M.R., Tolkach V.F., Kakareka N.N., Maslovsky K.S., Volkov Yu.G., Galkina I.V. Insects-ectoparasites of chiropterans. *Vladivostok: Far Eastern Federal University*, 2022. 242 p. (In Russ.)] doi: 10.24866/7444-5404-3
 27. Шелканов М.Ю., Табакаева Т.В., Шелканов Е.М., Панкратов Д.В., Табакаев А.В., Галкина И.В. Паукообразные-эктопаразиты рукокрылых. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2022. 126 с. [Shchelkanov M.Yu., Tabakaeva T.V., Shchelkanov E.M., Pankratov D.V., Tabakaev A.V., Galkina I.V. Arachnids-ectoparasites of chiropterans. *Vladivostok: Far Eastern Federal University*, 2022. 126 p. (In Russ.)] doi: 10.24866/7444-5377-0
 28. Шелканов М.Ю., Татонова Ю.В., Табакаева Т.В., Шелканов Е.М., Наумов Н.А., Хотько У.Е., Калинина К.А., Шуменко П.Г., Израильская А.В., Галкина И.В. Эндопаразиты рукокрылых: нематоды. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2023. 112 с. [Shchelkanov M.Yu., Tatanova Yu.V., Tabakaeva T.V., Shchelkanov E.M., Naumov N.A., Khotko U.E., Kalinina K.A., Shumenko P.G., Israelskaya A.V., Galkina I.V. Endoparasites of chiropterans: Nematodes. *Vladivostok: Far Eastern Federal University*, 2023. 112 p. (In Russ.)]
 29. Шелканов М.Ю., Шелканов Е.М., Уколов С.С., Табакаева Т.В., Баранчугов И.А., Воронова А.Н., Белов Ю.А., Григорян О.М., Вайнутис К.С., Щеглов Б.О., Баранчугова К.А., Галкина И.В. Биоэкология: вопросы и задачи с ответами и решениями. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2021. 250 с. [Shchelkanov M.Yu., Shchelkanov E.M., Ukolov S.S., Tabakaeva T.V., Baranchugov I.A., Voronova A.N., Belov Yu.A., Grigoryan O.M., Vainutis K.S., Shcheglov B.O., Baranchugova K.A., Galkina I.V. Bioecology: questions and problems with answers and solutions. *Vladivostok: Far Eastern Federal University*, 2021. 250 p. (In Russ.)] doi: 10.24866/7444-5188-2
 30. Alghuwainem A., Alshareeda A.T., Alsowayan B. Scaffold-free 3-D cell sheet technique bridges the gap between 2-D cell culture and animal models. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20: 4926. doi: 10.3390/ijms20194926
 31. Bar-Ephraim Y.E., Kretzschmar K., Clevers H. Organoids in immunological research. *Nat. Rev. Immunol.*, 2020, vol. 20, pp. 279–293. doi: 10.1038/s41577-019-0248-y
 32. Barrila J., Crabbé A., Yang J., Franco K., Nydam S.D., Forsyth R.J., Davis R.R., Gangaraju S., Ott C.M., Coyne C.B., Bissell M.J., Nickerson C.A. Modeling host-pathogen interactions in the context of the microenvironment: three-dimensional cell culture comes of age. *Infect. Immun.*, 2018, vol. 86: e00282-18. doi: 10.1128/IAI.00282-18
 33. Benson A. Implications of three-dimensional cell culture in drug discovery. *J. Regen. Med.*, 2023, vol. 12, iss. 1: 1000237. doi: 10.4172/2325-9620.1000237
 34. Berg J., Hiller T., Kissner M.S., Qazi T.H., Duda G.N., Hocke A.C., Hippenstiel S., Elomaa L., Weinhart M., Fahrenson C., Kurreck J. Optimization of cell-laden bioinks for 3D bioprinting and efficient infection with influenza A virus. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8, no. 1: 13877. doi: 10.1038/s41598-018-31880-x
 35. Bhowmick R., Derakhshan T., Liang Y., Ritchey J., Liu L., Gappa-Fahlenkamp H. A three-dimensional human tissue-engineered lung model to study influenza A infection. *Tissue Eng., 2018, part A*, vol. 24, pp. 1468–1480. doi: 10.1089/ten.tea.2017.0449
 36. Cacciamali A., Villa R., Dotti S. 3D cell cultures: evolution of an ancient tool for new applications. *Front. Physiol.*, 2022, vol. 13: 836480. doi: 10.3389/fphys.2022.836480
 37. Chen Y.W., Huang S.X., de Carvalho A., Ho S.H., Islam M.N., Volpi S., Notarangelo L.D., Ciancanelli M., Casanova J.L., Bhattacharya J., Liang A.F., Palermo L.M., Porotto M., Moscona A., Snoeck H.W. A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem cells. *Nat. Cell Biol.*, 2017, vol. 19, pp. 542–549. doi: 10.1038/ncb3510
 38. Chua A.C.Y., Ananthanarayanan A., Ong J.J.Y., Wong J.Y., Yip A., Singh N.H., Qu Y., Dembele L., McMillian M., Ubalee R., Davidson S., Tungtaeng A., Imerbsin R., Gupta K., Andolina C., Lee F., S-W Tan K., Nosten F., Russell B., Lange A., Diagana T.T., Rénia L., Yeung B.K.S., Yu H., Bifani P. Hepatic spheroids used as an in vitro model to study malaria relapse. *Biomaterials*, 2019, vol. 216: 119221. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.05.032
 39. Conceicao C., Thakur N., Human S., Kelly J.T., Logan L., Bialy D., Bhat S., Stevenson-Leggett P., Zagrajek A.K., Hollinghurst P., Varga M., Tsigirigi C., Hammond J.A., Maier H.J., Bickerton E., Shelton H., Dietrich I., Graham S.C., Bailey D. The SARS-CoV-2 Spike protein has a broad tropism for mammalian ACE2 proteins. *PLoS Biol.*, 2020, vol. 18: e3001016. doi: 10.1371/journal.pbio.3001016
 40. Corró C., Novellademunt L., Li V.S.W. A brief history of organoids. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 2020, vol. 319, pp. C151–C165. doi: 10.1152/ajpcell.00120.2020

41. Cugola F.R., Fernandes I.R., Russo F.B., Freitas B.C., Dias J.L.M., Guimarães K.P., Benazzato C., Almeida N., Pignatari G.C., Romero S., Polonio C.M., Cunha I., Freitas C.L., Brandão W.N., Rossato C., Andrade D.G., Faria D.P., Garcez A.T., Buchpigel C.A., Braconi C.T., Mendes E., Sall A.A., Zanotto P.M., Peron J.P.S., Muotri A.R., Beltrão-Braga P.C.B. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature*, 2016, vol. 534, pp. 267–271. doi: 10.1038/nature18296
42. De Melo B.A., Benincasa J.C., Cruz E.M., Maricato J.T., Porcionatto M.A. 3D culture models to study SARS-CoV-2 infectivity and antiviral candidates: from spheroids to bioprinting. *Biomed. J.*, 2021, vol. 44, pp. 31–42. doi: 10.1016/j.bj.2020.11.009
43. Dekkers J.F., Alieva M., Wellens L.M., Ariese H.C.R., Jamieson P.R., Vonk A.M., Amatngalim G.D., Hu H., Oost K.C., Snippert H.J.G., Beekman J.M., Wehrens E.J., Visvader J.E., Clevers H., Rios A.C. High-resolution 3D imaging of fixed and cleared organoids. *Nat. Protoc.*, 2019, vol. 14, pp. 1756–1771. doi: 10.1038/s41596-019-0160-8
44. Depla J.A., Sogorb-Gonzalez M., Mulder L.A., Heine V.M., Konstantinova P., van Deventer S.J., Wolthers K.C., Pajkrt D., Sridhar A., Evers M.M. Cerebral organoids: a human model for AAV capsid selection and therapeutic transgene efficacy in the brain. *Mol. Ther. Meth. Clin. Devel.*, 2020, vol. 18, pp. 167–175. doi: 10.1016/j.omtm.2020.05.028
45. Ettayebi K., Crawford S.E., Murakami K., Broughman J.R., Karandikar U., Tenge V.R., Neill F.H., Blutt S.E., Zeng X.L., Qu L., Kou B., Opekun A.R., Burrin D., Graham D.Y., Ramani S., Atmar R.L., Estes M.K. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Science*, 2016, vol. 353, pp. 1387–1393. doi: 10.1126/science.aaf5211
46. Finkbeiner S.R., Zeng X.L., Utama B., Atmar R.L., Shroyer N.F., Estes M.K. Stem cell-derived human intestinal organoids as an infection model for rotaviruses. *mBio*, 2012, vol. 3: e00159-12. doi: 10.1128/mbio.00159-12
47. Fuchs E., Blau H.M. Tissue stem cells: architects of their niches. *Cell. Stem. Cell*, 2020, vol. 27, pp. 532–556. doi: 10.1016/j.stem.2020.09.011
48. Gard A.L., Luu R.J., Miller C.R., Maloney R., Cain B.P., Marr E.E., Burns D.M., Gaibler R., Mulhern T.J., Wong C.A., Alladina J., Coppeta J.R., Liu P., Wang J.P., Azizgolshani H., Fezzie R.F., Balestrini J.L., Isenberg B.C., Medoff B.D., Finberg R.W., Borenstein J.T. High-throughput human primary cell-based airway model for evaluating influenza, coronavirus, or other respiratory viruses in vitro. *Sci. Rep.*, 2021, vol. 11, no. 1: 14961. doi: 10.1038/s41598-021-94095-7
49. Geiser J., Boivin G., Huang S., Constant S., Kaiser L., Tapparel C., Essaidi-Laziosi M. RSV and HMPV Infections in 3D tissue cultures: Mechanisms involved in virus-host and virus-virus interactions. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 1: 139. doi: 10.3390/v13010139
50. Guo Y., Luo R., Wang Y., Deng P., Zhang M., Wang P., Zhang X., Cui K., Tao T., Li Z., Chen W., Zheng Y., Qin J. Modeling SARS-CoV-2 infection in vitro with a human intestine-on-chip device. *bioRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.09.01.277780
51. Gulyaeva M., Sharshov K., Suzuki M., Sobolev I., Sakoda Y., Alekseev A., Sivay M., Shestopalova L., Shchelkanov M., Shestopalov A. Genetic characterization of an H2N2 influenza virus isolated from a muskrat in Western Siberia. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2017, vol. 79, no. 8, pp. 1461–1465. doi: 10.1292/jvms.17-0048
52. Häfner S.J. Level up for culture models — how 3D cell culture models benefit SARS-CoV-2 research. *Biomed. J.*, 2021, vol. 44, pp. 1–6. doi: 10.1016/j.bj.2021.02.001
53. Han Y., Yang L., Lacko L.A., Chen S. Human organoid models to study SARS-CoV-2 infection. *Nat. Methods*, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 418–428. doi: 10.1038/s41592-022-01453-y
54. Harb A., Fakhreddine M., Zaraket H., Saleh F.A. Three-dimensional cell culture models to study respiratory virus infections including COVID-19. *Biomimetics*, 2021, vol. 7, no. 1: 3. doi: 10.3390/biomimetics7010003
55. Hill D.R., Huang S., Nagy M.S., Yadagiri V.K., Fields C., Mukherjee D., Bons B., Dedhia P.H., Chin A.M., Tsai Y.H., Thodla S., Schmidt T.M., Walk S., Young V.B., Spence J.R. Bacterial colonization stimulates a complex physiological response in the immature human intestinal epithelium. *Elife*, 2017, vol. 6: e29132. doi: 10.7554/eLife.29132
56. Hofer M., Lutolf M.P. Engineering organoids. *Nat. Rev. Mater.*, 2021, vol. 6, no. 5, pp. 402–420. doi: 10.1038/s41578-021-00279-y
57. Hu M., Ling Z., Ren X. Extracellular matrix dynamics: tracking in biological systems and their implications. *J. Biol. Eng.*, 2022, vol. 16, no. 1: 13. doi: 10.1186/s13036-022-00292-x
58. Hui K.P.Y., Ching R.H.H., Chan S.K.H., Nicholls J.M., Sachs N., Clevers H., Peiris J.S.M., Chan M.C.W. Tropism, replication competence, and innate immune responses of influenza virus: an analysis of human airway organoids and ex-vivo bronchus cultures. *Lancet Respir. Med.*, 2018, vol. 6, no. 11, pp. 846–854. doi: 10.1016/S2213-2600(18)30236-4
59. Ingber D.E. Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine. *Nat. Rev. Genet.*, 2022, vol. 23, pp. 467–491. doi: 10.1038/s41576-022-00466-9
60. Jacob F., Pather S.R., Huang W.K., Wong S.Z.H., Zhou H., Cubitt B., Fan W., Chen C.Z., Xu M., Pradhan M., Zhang D.Y., Zheng W., Bang A.G., Song H., de la Torre J.C., Ming G. Human pluripotent stem cell-derived neural cells and brain organoids reveal SARS-CoV-2 neurotropism. *Cell Stem Cell*, 2020, vol. 27, pp. 937–950. doi: 10.1016/j.stem.2020.09.016
61. Jensen C., Teng Y. Is it time to start transitioning from 2D to 3D cell culture? *Front. Mol. Biosci.*, 2020, vol. 7: 33. doi: 10.3389/fmolb.2020.00033
62. Kapałczyńska M., Kolenda T., Przybyła W., Zajączkowska M., Teresiak A., Filas V., Ibbs M., Bliźniak R., Łuczewski Ł., Lamperska K. 2D and 3D cell cultures — a comparison of different types of cancer cell cultures. *Arch. Med. Sci.*, 2018, vol. 14, no. 4, pp. 910–919. doi: 10.5114/aoms.2016.63743
63. Karamov E.V., Yaroslavtseva N.G., Shchelkanov M.Yu., Martovitsky D.V., Lukashov V.V., Kozlov A.P., Papuashvili M.N., Goudsmit J., Khaitov R.M. Antigenic and genetic relations between different HIV-1 subtypes in Russia. *Immunology and Infectious Diseases*, 1996, vol. 6, pp. 15–24.
64. Kessie D.K., Rudel T. Advanced human mucosal tissue models are needed to improve preclinical testing of vaccines. *PLoS Biol.*, 2021, vol. 19, no. 11: e3001462. doi: 10.1371/journal.pbio.3001462
65. Kim J., Koo B.K., Knoblich J.A. Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2020, vol. 21, pp. 571–584. doi: 10.1038/s41580-020-0259-3
66. Koban R., Lam T., Schwarz F., Kloke L., Bürge S., Ellerbrok H., Neumann M. Simplified bioprinting-based 3D cell culture infection models for virus detection. *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 11: 1298. doi: 10.3390/v12111298
67. Kuznetsova T.A., Andryukov B.G., Besednova N.N., Khotimchenko Yu.S. Polysaccharides from marine algae in modern technologies of regenerative medicine. *Russian Journal of Marine Biology*, 2021, vol. 47, no. 1, pp. 1–9. doi: 10.1134/S1063074021010065
68. Lam T.T., Jia N., Zhang Y.W., Shum M.H.-H., Jiang J.-F., Zhu H.-C., Tong Y.-G., Shi Y.-X., Ni X.-B., Liao Y.-S., Li W.-J., Jiang B.-G., Wei W., Yuan T.-T., Zheng K., Cui X.-M., Li J., Pei G.-Q., Qiang X., Cheung W.Y.-M., Li L.-F., Sun F.-F., Qin S.,

- Huang J.-C., Leung G.M., Holmes E.C., Hu Y.-L., Guan Y., Cao W.-C. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 2020, vol. 583, pp. 282–285. doi: 10.1038/s41586-020-2169-0
69. Lamers M.M., Beumer J., van der Vaart J., Knoops K., Puschhof J., Breugem T.I., Ravelli R.B.G., van Schayck J.P., Mykytyn A.Z., Duimel H.Q., van Donselaar E., Riesebosch S., Kuijpers H.J.H., Schipper D., van de Wetering W.J., de Graaf M., Koopmans M., Cuppen E., Peters P.J., Haagmans B.L., Clevers H. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science*, 2020, vol. 369, pp. 50–54. doi: 10.1126/science.abc1669
 70. Lawko N., Plaskasovitis C., Stokes C., Abelseth L., Fraser I., Sharma R., Kirsch R., Hasan M., Abelseth E., Willerth S.M. 3D tissue models as an effective tool for studying viruses and vaccine development. *Front. Mat.*, 2021, vol. 80: 631373. doi: 10.3389/fmats.2021.631373
 71. Li M.Y., Li L., Zhang Y., Wang X.S. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infect. Dis. Poverty*, 2020, vol. 9, no. 1: 45. doi: 10.1186/s40249-020-00662-x
 72. Li Y., Pillai P., Miyake F., Nair H. The role of viral co-infections in the severity of acute respiratory infections among children infected with respiratory syncytial virus (RSV): a systematic review and meta-analysis. *J. Glob. Health.*, 2020, vol. 10, no. 1: 010426. doi: 10.7189/jogh.10.010426
 73. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and ecology. *Academic Press*, 2015. 452 p. doi: 10.1016/C2014-0-01020-9
 74. Miller A.J., Dye B.R., Ferrer-Torres D., Hill D.R., Overeem A.W., Shea L.D., Spence J.R. Generation of lung organoids from human pluripotent stem cells in vitro. *Nat. Protoc.*, 2019, vol. 14, pp. 518–540. doi: 10.1038/s41596-018-0104-8
 75. Min S., Kim S., Cho S.W. Gastrointestinal tract modeling using organoids engineered with cellular and microbiota niches. *Exp. Mol. Med.*, 2020, vol. 52, pp. 227–237. doi: 10.1038/s12276-020-0386-0
 76. Moe N., Krokstad S., Stenseng I.H., Christensen A., Skanke L.H., Risnes K.R., Nordbø S.A., Døllner H. Comparing human metapneumovirus and respiratory syncytial virus: viral co-detections, genotypes and risk factors for severe disease. *PLoS One*, 2017, vol. 12: e0170200. doi: 10.1371/journal.pone.0170200
 77. Monteil V., Kwon H., Prado P., Hagekkrüys A., Wimme R.A., Stahl M., Leopoldi A., Garreta E., Hurtado del Pozo C., Prosper F.F., Romero J.P., Wirnsberger G., Zhang H., Slutsky A.S., Conder R., Montserrat N., Mirazimi A., Penninger J.M. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. *Cell*, 2020, vol. 181, no. 4, pp. 905:e7–913.e7. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.004
 78. Nickerson C.A., zu Bentrup K.H., Ott C.M. Three-dimensional cell culture models for infectious disease and drug development. *Future Pharmacology*, 2023, vol. 3, no. 1, pp. 48–60. doi: 10.3390/futurepharmacol3010004
 79. Ortega-Soto E., Chopin-Doroteo M. Cell cultures: a laboratory tool for studying viruses. *Front. Young Minds*, 2023, vol. 11: 943570. doi: 10.3389/frym.2023.943570
 80. Pizzorno A., Padey B., Julien T., Trouillet-Assant S., Traversier A., Errazuriz-Cerda E., Fouret J., Dubois J., Gaymard A., Lescure F.X., Dulière V., Brun P., Constant S., Poissy J., Lina B., Yazdanpanah Y., Terrier O., Rosa-Calatrava M. Characterization and treatment of SARS-CoV-2 in nasal and bronchial human airway epithelia. *Cell Rep. Med.*, 2020, vol. 1: 100059. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100059
 81. Ramani A., Müller L., Ostermann P.N., Gabriel E., Abida Islam P., Müller-Schiffmann A., Mariappan A., Goureau O., Gruell H., Walker A., Andrée M., Hauka S., Houwaart T., Diltthey A., Wohlgemuth K., Omran H., Klein F., Wiczorek D., Adams O., Timm J., Korth C., Schaal H., Gopalakrishnan J. SARS-CoV-2 targets cortical neurons of 3D human brain organoids and shows neurodegeneration-like effects. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.05.20.106575
 82. Rima B., Collins P., Easton A., Fouchier R., Kurath G., Lamb R.A., Lee B., Maisner A., Rota P., Wang L. ICTV virus taxonomy profile: Pneumoviridae. *J. Gen. Virol.*, 2017, vol. 98, pp. 2912–2913. doi: 10.1099/jgv.0.000959
 83. Rock J.R., Onaitis M.W., Rawlins E.L., Lu Y., Clark C.P., Xue Y., Randell S.H., Hogan B.L. Basal cells as stem cells of the mouse trachea and human airway epithelium. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2009, vol. 106, pp. 12771–12775. doi: 10.1073/pnas.0906850106
 84. Sachs N., Papaspyropoulos A., Zomer-van Ommen D.D., Heo I., Böttinger L., Klay D., Weeber F., Huelsz-Prince G., Iakobachvili N., Amatngalim G.D., de Ligt J., van Hoeck A., Proost N., Viveen M.C., Lyubimova A., Teeven L., Derakhshan S., Korving J., Begthel H., Dekkers J.F., Kumawat K., Ramos E., van Oosterhout M.F., Offerhaus G.J., Wiener D.J., Olimpio E.P., Dijkstra K.K., Smit E.F., van der Linden M., Jaksani S., van de Ven M., Jonkers J., Rios A.C., Voest E.E., van Moorsel C.H., van der Ent C.K., Cuppen E., van Oudenaarden A., Coenjaerts F.E., Meyaard L., Bont L.J., Peters P.J., Tans S.J., van Zon J.S., Boj S.F., Vries R.G., Beekman J.M., Clevers H. Long-term expanding human airway organoids for disease modeling. *EMBO J.*, 2019, vol. 38: e100300. doi: 10.15252/embj.2018100300
 85. Sang Y., Miller L.C., Nelli R.K., Giménez-Lirola L.G. Harness organoid models for virological studies in animals: a cross-species perspective. *Front. Microbiol., Sec. Virology*, 2021, vol. 12: 725074. doi: 10.3389/fmicb.2021.725074
 86. Sang E.R., Tian Y., Miller L.C., Sang Y. Epigenetic evolution of ACE2 and IL-6 genes: non-canonical interferon-stimulated genes correlate to COVID-19 susceptibility in vertebrates. *Genes*, 2021, vol. 12: 154. doi: 10.3390/genes12020154
 87. Schutgens F., Clevers H. Human organoids: tools for understanding biology and treating diseases. *Annu. Rev. Pathol.*, 2020, vol. 15, pp. 211–234. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032611
 88. Shi N., Li N., Duan X. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil. Med. Res.*, 2017, vol. 4: 14. doi: 10.1186/s40779-017-0122-9
 89. Shpichka A., Bikmulina P., Peshkova M., Kosheleva N., Zurina I., Zahmatkesh E., Khoshdel-Rad N., Lipina M., Golubeva E., Butnaru D., Svistunov A., Vosough M., Timashev P. Engineering a model to study viral infections: bioprinting, microfluidics, and organoids to defeat coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Int. J. Bioprint*, 2020, vol. 6: 302. doi: 10.18063/ijb.v6i4.302
 90. Si L., Prantil-Baun R., Benam K.H., Bai H., Rodas M., Morgan B., Ingber D.E. Discovery of influenza drug resistance mutations and host therapeutic targets using a human airway chip. *bioRxiv*, 2019, preprint. doi: 10.1101/685552
 91. Siddiqi H.K., Libby P., Ridker P.M. COVID-19 — a vascular disease. *Trends Cardiovasc. Med.*, 2021, vol. 31, pp. 1–5. doi: 10.1016/j.tcm.2020.10.005
 92. Sridhar A., Simmini S., Ribeiro C.M.S., Tapparel C., Evers M.M., Pajkrt D., Wolthers K. A perspective on organoids for virology research. *Viruses*, 2020, vol. 12: 1341. doi: 10.3390/v12111341

93. Stanifer M.L., Kee C., Cortese M., Zumaran C.M., Triana S., Mukenhirn M., Krausslich H.-G., Alexandrov T., Bartenschlager R., Boulant S. Critical role of type III interferon in controlling SARS-CoV-2 infection in human intestinal epithelial cells. *Cell Rep.*, 2020, vol. 32: 107863. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107863
94. Suarez-Martinez, E., Suazo-Sanchez, I., Celis-Romero, M., Carnero A. 3D and organoid culture in research: physiology, hereditary genetic diseases and cancer. *Cell Biosci.*, 2022, vol. 12: 39. doi: 10.1186/s13578-022-00775-w
95. Tang H., Abouleila Y., Si L., Ortega Prieto A.M., Mummery C.L., Ingber D.E., Mashaghi A. Human organs-on-chips for virology. *Trends Microbiol.*, 2020, vol. 28, no. 11, pp. 934–946. doi: 10.1016/j.tim.2020.06.005
96. Tayeb S. Smith Y., Panet A., Zakay-Rones Z. Comparison of ex-vivo organ culture and cell culture to study drug efficiency and virus-host interactions. *Integr. Mol. Med.*, 2020, vol. 7, no. 5, pp. 1–5. doi: 10.15761/IMM.1000410
97. Varan G., Unal S. Three-dimensional cell culture methods in infectious diseases and vaccine research. *Future Pharmacology*, 2023, vol. 3, no. 1, pp. 48–60. doi: 10.3390/futurepharmacol3010004
98. Wagar L.E., Salahudeen A., Constantz C.M., Wendel B.S., Lyons M.M., Mallajosyula V., Jatt L.P., Adamska J.Z., Blum L.K., Gupta N., Jackson K.J. L., Yang F., Röltgen K., Roskin K.M., Blaine K.M., Meister K.D., Ahmad I.N., Cortese M., Dora E.G., Tucker S.N., Sperling A.I., Jain A., Davies D.H., Felgner P.L., Hammer G.B., Kim P.S., Robinson W.H., Boyd S.D., Kuo C.J., Davis M.M. Modeling human adaptive immune responses with tonsil organoids. *Nat. Med.*, 2021, vol. 27, pp. 125–135. doi: 10.1038/s41591-020-01145-0
99. Wang D. 5 challenges in understanding the role of the virome in health and disease. *PLoS Pathog.*, 2020, vol. 16: e1008318. doi: 10.1371/journal.ppat.1008318
100. Wu Q., Liu J., Wang X., Feng L., Wu J., Zhu X., Wen W., Gong X. Organ-on-a-chip: recent breakthroughs and future prospects. *Biomed. Eng. Online*, 2020, vol. 19: 9. doi: 10.1186/s12938-020-0752-0
101. Zanon M., Cortesi M., Zamagni A., Arienti C., Pignatta S., Tesi A. Modeling neoplastic disease with spheroids and organoids. *J. Hematol. Oncol.*, 2020, vol. 13: 97. doi: 10.1186/s13045-020-00931-0
102. Zhang M., Wang P., Luo R., Wang Y., Li Z., Guo Y., Yao Y., Li M., Tao T., Chen W., Han J., Liu H., Cui K., Zhang X., Zheng Y., Qin J. A human disease model of SARS-CoV-2-induced lung injury and immune responses with a microengineered organ chip. *bioRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.07.20.211789
103. Zhao B., Ni C., Gao R., Wang Y., Yang L., Wei J., Ting L., Liang J., Zhang Q., Xu W., Xie Y., Wang X., Yuan Z., Liang J., Zhang R., Lin X. Recapitulation of SARS-CoV-2 infection and cholangiocyte damage with human liver organoids. *bioRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.03.16.990317
104. Zhou J., Li C., Liu X., Chiu M.C., Zhao X., Wang D., Wei Y., Lee A., Zhang A.J., Chu H., Cai J.P., Yip C.C., Chan I.H., Wong K.K., Tsang O.T., Chan K.H., Chan J.F., To K.K., Chen H., Yuen K.Y. Infection of bat and human intestinal organoids by SARS-CoV-2. *Nat. Med.*, 2020, vol. 26, no. 7, pp. 1077–1083. doi: 10.1038/s41591-020-0912-6
105. Zhuang P., Sun A.X., An J., Chua C.K., Chew S.Y. 3D neural tissue models: from spheroids to bioprinting. *Biomaterials*, 2018, vol. 154, pp.113–133. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.002

Авторы:

Кузнецова Т.А., д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории биопрепаратов ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Алиев М.Р., лаборант-исследователь лаборатории биопрепаратов ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; магистрант Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток, Россия;

Михалко А.А., лаборант-исследователь лаборатории респираторных инфекций ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; студентка Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток, Россия;

Щелканов М.Ю., д.б.н., доцент, директор ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; зав. кафедрой эпидемиологии, микробиологии и паразитологии Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток, Россия.

Authors:

Kuznetsova T.A., DSc (Medicine), Head Researcher, Laboratory of Biopreparations, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation;

Aliev M.R., Research Laboratory Assistant, Laboratory of Biopreparations, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation; Graduate Student, School of Medicine and Life Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation;

Mikhalko A.A., Research Laboratory Assistant, Laboratory of Biopreparations, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation; Student, School of Medicine and Life Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation;

Shchelkanov M.Yu., DSc (Biology), Associate Professor, Director of G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation; Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Parasitology, School of Medicine and Life Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation.

СОВРЕМЕННЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ВИРОТЕРАПИИ КАК СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Л.Д. Власова

ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара, Россия

Резюме. Анализ научной литературы, представленной в основных базах данных (PubMed, CyberLeninka, Google Scholar, Scopus), свидетельствует о том, что злокачественные опухоли занимают второе место среди самых распространенных причин смертности как в развитых, так и в развивающихся странах, уступая сердечно-сосудистым заболеваниям, и терапия онкологических заболеваний требует поиска новых подходов, поскольку многие виды злокачественных опухолей устойчивы к традиционным методам лечения. Цель обзора — оценка возможностей применения виротерапии для лечения онкологических заболеваний в современных условиях. В обзоре рассматривается одна из методик лечения онкологических заболеваний с использованием онколитических вирусов, включающих в себя 9 семейств (*Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Picornaviridae*, *Parvoviridae*, *Reoviridae*, *Poxviridae*, *Paramyxoviridae*, *Togaviridae*, *Rhabdoviridae*), — виротерапия, приводится краткая история ее развития, в том числе в России. Описанные механизмы действия онколитических вирусов поделены на две группы. Первая группа характеризуется распознаванием онколитическими вирусами специфических рецепторов опухолевых клеток, их инфицированием и разрушением за счет аутофагии, некроза, апоптоза, пироптоза или взрывного пути. Вторая группа направлена на активацию противоопухолевого иммунитета. Рассматриваются молекулярные основы действия онколитических вирусов, а также варианты применения виротерапии, возможности сочетания терапии онколитическими вирусами с другими способами лечения онкологических заболеваний. Описаны некоторые лекарственные препараты на их основе, в частности талимоген лагерпарепвек (Talimogene laherparepvec, TVEC), применение которого было одобрено в 2015 г. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA). Приводятся клинические испытания препаратов на основе онколитических вирусов и их результаты. Сделан вывод о том, что виротерапия — перспективное направление в лечении онкологических заболеваний, обладающее рядом преимуществ по сравнению с традиционными методами лечения, но в то же время имеющее ряд недостатков и требующее дальнейшего изучения.

Ключевые слова: виротерапия, опухолевые клетки, онкологические заболевания, онколитические вирусы, препараты на основе онколитических вирусов.

CURRENT PERSPECTIVES OF VIROTHERAPY AS A CANCER TREATMENT STRATEGY

Vlasova L.D.

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

Abstract. Analysis of scientific literature presented in the main databases (PubMed, CyberLeninka, Google Scholar, Scopus) evidence that after cardiovascular diseases malignant tumors hold the second place among the most common

Адрес для переписки:

Власова Любовь Денисовна
443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 89,
ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский
университет МЗ РФ.
Тел.: 8 937 649-77-15.
E-mail: ldv555555@gmail.com

Contacts:

Lyubov D. Vlasova
443099, Russian Federation, Samara, Chapaevskaya str., 89,
Samara State Medical University of the Ministry of Health
of the Russian Federation.
Phone: +7 937 649-77-15.
E-mail: ldv555555@gmail.com

Для цитирования:

Власова Л.Д. Современные перспективы виротерапии как стратегии
лечения онкологических заболеваний // Инфекция и иммунитет. 2024.
Т. 14, № 6. С. 1063–1069. doi: 10.15789/2220-7619-CPO-17687

Citation:

Vlasova L.D. Current perspectives of virotherapy as a cancer treatment
strategy // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet,
2024, vol. 14, no. 6, pp. 1063–1069. doi: 10.15789/2220-7619-CPO-17687

© Власова Л.Д., 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-CPO-17687>

causes of mortality in both developed and developing countries, with therapy of oncological diseases requiring to seek out for new approaches, since many types of malignant tumors are resistant to traditional treatment methods. The review was aimed at assessing a potential of virotherapy application for treatment of oncologic diseases in modern conditions. The review evaluates one of treatment methods for oncologic diseases based on using oncolytic viruses, including 9 families (*Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Picornaviridae*, *Parvoviridae*, *Reoviridae*, *Poxviridae*, *Paramyxoviridae*, *Togaviridae*, *Rhabdoviridae*) — a virotherapy, and briefly outlines its development, including Russia. The described mechanisms of action for oncolytic viruses are divided into two groups: i) recognition by oncolytic viruses of specific receptors on tumor cells, their infection and destruction via autophagy, necrosis, apoptosis, pyroptosis or blast pathway; ii) activation of antitumor immunity. Molecular basement of oncolytic virus action is discussed including types of virotherapy application, opportunity to combine oncolytic virus therapy with other means of oncologic diseases treatment. Some drugs based on such approaches are described, particularly talimogene laherparepvec (TVEC) that was approved in 2015 by the U.S. Food and Drug Administration (FDA). Clinical trials with oncolytic virus-based drugs and their results are presented. It is concluded that virotherapy is a promising direction in treatment of oncologic diseases, which has a number of advantages over traditional methods of treatment, but at the same time has a number of disadvantages and requires further investigation.

Key words: virotherapy, tumor cells, oncological diseases, oncolytic viruses, drugs based on oncolytic viruses.

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, в 2020 г. было диагностировано более 19 млн новых случаев онкологических заболеваний, примерно 10 млн случаев завершились летальным исходом. В настоящее время злокачественные опухоли остаются одной из самых распространенных причин смертности людей, уступая сердечно-сосудистым заболеваниям [40]. Существует множество методов оперативного (например, циторедуктивная операция) и консервативного (химиотерапия, лучевая и лекарственная терапия) лечения онкологических заболеваний. Однако многие методы консервативной терапии остаются токсичными для организма [7, 14, 33, 42]. К тому же при лечении традиционными способами у опухолевых клеток нередко формируется устойчивость, а заболевание может рецидивировать. Поэтому становится актуальным поиск качественно новых способов лечения онкологических заболеваний. В последние десятилетия внимание ученых привлекает виротерапия. В данном виде терапии для борьбы со злокачественными опухолями применяются онколитические вирусы.

Краткая история виротерапии

Еще в медицинской литературе начала XX века сообщалось о спонтанной клинической ремиссии онкологических заболеваний у людей после вакцинации или перенесенного инфекционного заболевания вирусной природы. В 1904 г. был описан клинический случай со снижением количества лейкоцитов у пациента с лейкозом после перенесенного гриппа [23]. В 1912 г. была обнаружена спонтанная регрессия опухоли шейки матки в результате введения живой антирабической вакцины. В 1940 г. были проведены первые клинические

испытания с использованием вакцины против бешенства для лечения меланомы, в результате наблюдалась частичная ремиссия [22]. В то время появились первые идеи о возможном использовании некоторых вирусов для лечения онкологических заболеваний. В России подобные исследования были начаты Мариной Константиновной Ворошиловой из Института полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН в 1970-е гг. Под ее руководством были получены штаммы непатогенных энтеровирусов и были изучены их онколитические свойства [2].

К 2017 г. в Новосибирске в Научно-исследовательском институте экспериментальной и клинической медицины были проверены штаммы вируса болезни Ньюкасла и отобраны те, которые обладают наибольшим онколитическим эффектом. В результате контрольного эксперимента на мышах было выяснено, что опухоль после применения одного из штаммов замедлила рост в 4 раза, при этом для нормальных клеток вирус был безвреден. Клинические испытания успешно прошел препарат для лечения аденокарциномы и глиомы. В основе этого препарата — штамм болезни Ньюкасла, инфицирующий преимущественно птиц и способный к онколизу [18].

Онколитические вирусы

Некоторые вирусы (например, вирус папилломы человека, вирусы гепатита В и С) могут служить этиологическим фактором онкологических заболеваний [5, 15]. Однако существуют вирусы, обладающие способностью разрушать опухолевые клетки и активировать иммунный ответ организма.

Онколитические вирусы — это группа природных и генетически модифицированных вирусов различных семейств (*Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Picornaviridae*, *Parvoviridae*, *Reoviri-*

dae, *Poxviridae*, *Paramyxoviridae*, *Togaviridae*, *Rhabdoviridae*), способных распознавать специфические рецепторы опухолевых клеток, инфицировать и лизировать их [39], оказывая минимальное воздействие на здоровые клетки [32, 35], либо активировать иммунную противоопухолевую защиту организма [8].

Опухолевые клетки, как правило, характеризуются более коротким жизненным циклом и активной пролиферацией. Лишь небольшое их число пребывает в фазе покоя (G0). К основным признакам, отличающим клетки злокачественных опухолей от нормальных клеток, относятся: неограниченный потенциал репликации и, как следствие, неконтролируемый рост популяции; высокая скорость воспроизведения с большими затратами энергии организма; невосприимчивость к антипролиферативным сигналам; способность к самостоятельной миграции по всему организму и метастазированию; избегание апоптоза — запрограммированной гибели клетки; утрата дифференцировки; индукция ангиогенеза; почти полная неуязвимость для иммунных клеток собственного организма [11].

Механизмы действия онколитических вирусов

Онколиз

Существует два основных механизма действия онколитических вирусов. Первый механизм заключается в разрушении опухолевых клеток (онколиз) за счет взрывного пути, аутофагии, некроза или апоптоза. Второй механизм основан на индукции противоопухолевого иммунитета [3, 13, 33].

Эффективный онколиз обеспечивается способностью вирусов селективно инфицировать и разрушать опухолевые клетки. При первичном контакте вирус адсорбируется на клетке за счет взаимодействия белковых лигандов вируса со специфическими мембранными рецепторами, причем области контакта содержат различные молекулы (пептиды, гликопротеины и т. д.). Проникновение в клетку происходит чаще всего путем пиноцитоза, возможно также слияние оболочки вируса с цитоплазматической мембраной. Безоболочечные вирусы проникают в клетку путем мембранного прокола, перфорации или лизиса мембраны цитоплазматических органелл для проникновения в цитозоль. Попав в клетку, вирус подвергается депротенизации. Высвобождается внутренний компонент (нуклеиновая кислота (ДНК или РНК), нуклеокапсид или сердцевина вириона). Далее в инфицированной клетке происходит синтез вирусных белков, репли-

кация вирусного генома и сборка вирусных частиц. На заключительной стадии возможен выход вируса из клетки с ее лизисом (взрывной путь), что характерно для продуктивного типа взаимодействия вируса с клеткой. Вышедшие вирусы способны адсорбироваться на соседних клетках опухоли [4].

Такие вирусы, как вирус паротита, рабдо-вирусы, вирус везикулярного стоматита, вирус кори, вызывают гибель опухолевых клеток путем индукции апоптоза. Одной из причин «избегания» апоптоза являются условия гипоксии, в которых развиваются опухолевые клетки, что ведет к уменьшению содержания белков семейства Bcl-2, способных создавать поры в стенках митохондрий, через которые в цитозоль поступают вещества, запускающие процессы клеточной гибели [16].

Другой причиной отсутствия апоптоза у опухолевых клеток является дефектный белок p53, являющийся фактором транскрипции и контролирующей механизмы апоптоза измененных или поврежденных клеток. В большинстве опухолевых клеток он нефункционален из-за мутаций в самом белке или в белках, которые контролируют его активность. Ряду вирусов требуется модификация генома для ограничения репликации в нормальных клетках, то есть таргетинг («нацеливание»). Методами генной инженерии был создан мутантный онколитический аденовирус, реплицирующийся в клетках с дефектным белком p53 и приводящий к апоптозу [10].

Вирус коровьей оспы (вирус осповакцины) VACV содержит ряд генов, продукты экспрессии которых способны изменять нормальную клетку так, что она перестает контролировать свой клеточный цикл, подвергается избыточной репликации и транскрипции и теряет способность к апоптозу. Так как клетки опухоли характеризуются высокой способностью к пролиферации, удаление таких генов не нарушает воспроизведение вирусов в этих клетках, но препятствует их репликации в здоровых клетках [30].

Вирус венесуэльского энцефаломиелимита лошадей вызывает некроз опухолевых клеток, оказывая цитопатическое действие. Аутофагию индуцируют такие вирусы, как вирус Ньюкасла, реовирус, аденовирус [17].

К вирусам, вызывающим лизис опухолевых клеток, относятся парвовирусы, для репликации которых необходим белок NS1, являющийся первым неструктурным белком вируса, который также ответствен за онколитическую активность. Белок NS1 способен взаимодействовать с белками клетки, вызывая нарушение процессов жизнедеятельности, в том числе репликации и трансляции [6].

Активация противоопухолевого иммунитета

Вирусы способны запускать в организме воспалительную реакцию для активации иммунных клеток, распознающих опухолевые клетки, инфицированные вирусом. При инфицировании опухоли аденовирусом экспрессируется ген E1A и повышается чувствительность к фактору некроза опухоли (TNF)-альфа [12, 21].

Для усиления иммунного ответа, направленного на цитолиз, «создаются» вирусы, которые экспрессируют гены иммуностимулирующих факторов. Это называется армингом («вооружением») вирусов, которые выступают векторами терапевтических генов. Производится генетическая модификация вируса, в результате которой в него включаются трансгены, кодирующие цитокины, костимуляторные белки, хемокины [27, 37], а также цитотоксичный «белок смерти» дикого штамма аденовируса, который вызывает лизис клеток [25].

Введение онколитических вирусов эффективно как само по себе, так и в сочетании с интерлейкинами и цитостатиками, однако до конца механизмы разрушения опухолевых клеток, наступающего в результате инфицирования онколитическими вирусами, не выяснены [36].

Варианты применения виротерапии

Суть «кассетной виротерапии» заключается в использовании серии онколитических вирусов, не имеющих иммунных перекрестов. Разные вирусы могут запускать апоптоз, аутофагию, пироптоз и другие механизмы запрограммированной клеточной гибели, а также воспаление опухолевых клеток. Данный подход позволяет избирательно уничтожать опухолевые клетки в зависимости от локализации в организме и избежать иммунного ответа [42].

Такая модификация, как «экранирование», направлена на усиление распространения вирусов. При наличии у пациента иммунитета к вирусу он может инактивироваться антителами. Чтобы этого не происходило, рассматриваются варианты применения биоразлагаемых синтетических полимеров (например, катионный полимер, связанный с полиэтиленгликолем, поли(N-(2-гидроксипропил) метакриламидом) и ДНК-аптамером) [29].

Клиническое значение имеет сочетание виротерапии с традиционными методами лечения злокачественных опухолей. В частности, в эксперименте на крысах была исследована способность GLV-1h68 (инженерного вируса осповакцины) сдерживать развитие саркомы конечности в сочетании с хирургической резекцией и лучевой терапией [41].

Препараты, применяемые в виротерапии

К настоящему времени создано множество препаратов на основе онколитических вирусов. В 2015 г. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) было одобрено применение талимогена лагерпарепвека (Talimogene laherparepvec, TVEC) — препарата, содержащего генетически модифицированную форму вируса простого герпеса первого типа [24, 38]. Делеция определенных генов в геноме вируса привела к избирательной репликации в опухолевых клетках. В геноме HSV-1 был введен трансген человеческого гранулоцитарно-макрофагального колоние-стимулирующего фактора (GM-CSF), являющегося иммуномодулирующим цитокином, который способствует развитию и продлению клеточного и гуморального иммунитета. Была усилена презентация вирусных и опухолевых антигенов, что активировало иммунную систему и повышает эффективность в борьбе с опухолевыми клетками [19, 28]. Терапия с использованием TVEC включает в себя введение раствора непосредственно в злокачественную опухоль. Американскими учеными было проведено клиническое испытание: из 80 пациентов с меланомой 3 и 4 стадии, которым вводили препарат в течение трех лет, у 31 пациента (38,75%) наблюдался полный локальный ответ. У группы с меланомой стадии 3В частота полного локального ответа составила 68%, 3С — 26%, 4 стадии — 6%. У 18% пациентов наблюдался частичный локальный ответ. Примерно у четверти пациентов были побочные симптомы, схожие с гриппом. Пять человек прекратили участие в эксперименте из-за развившегося герпеса и прочих осложнений, связанных с инфекциями. Большинство пациентов перенесли лечение хорошо [9, 20].

В 2018 г. были опубликованы результаты клинических испытаний онколитического дикого штамма аденовируса DNX-2401 (Delta-24-RGD; tasadenoturev) фазы I на 37 пациентах с рецидивирующей злокачественной глиомой. Селективность к опухолям обусловлена делецией пары из 24 оснований в гене E1A, в результате которой вирус не может реплицироваться в нормальных клетках. Пациенты группы А получили однократную внутриопухолевую инъекцию DNX-2401, 20% пациентов прожили более трех лет после лечения. Пациентам группы В была проведена внутриопухолевая инъекция через имплантированный катетер. Через 2 недели последовала трепанация черепа с полной резекцией глиомы и введением второй

дозы вируса в несколько участков. В результате виротерапии повысилась общая выживаемость пациентов [31].

В 2005 г. Государственное управление по контролю за продуктами питания и лекарствами Китая одобрило препарат Oncorine (H101) для терапии плоскоклеточного рака головы и шеи. Основу препарата составляет генетически модифицированный аденовирус человека 5 типа (HAdV-C5), у которого были удалены области E1B-55KD и E3 для индукции избирательной репликации в клетках с дефектом p53 [26].

В мае 2022 г. в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Петрова начались клинические испытания лекарственного препарата, предназначенного для терапии опухоли молочной железы. Средство создано на основе инактивированного рекомбинантного вируса осповакцины VV-GMCSF-Lact [1].

Заключение

Опухолевые клетки проявляют большую чувствительность к инфекциям, вызываемым вирусами, по сравнению с нормальными клетками из-за увеличения содержания рецепторов,

к которым тропны вирусы, а также из-за неспособности к синтезу противовирусного белка интерферона. Наибольший результат достигается при совмещении виротерапии с другими способами лечения.

Виротерапия обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционными методами лечения: локальное воздействие на опухоль, избирательное уничтожение опухолевых клеток макроорганизма, усиление эффекта химиотерапии и лучевой терапии, активация иммунного ответа, профилактика развития метастазов и рецидивов.

Однако лечение онкологических заболеваний онколитическими вирусами имеет ряд трудностей и рисков: нейтрализация вирусов иммунными механизмами, развитие инфекционного процесса, возможность поглощения вирусов нецелевыми органами (например, при внутривенном введении или внутриартериальной доставке), развитие осложнений (индивидуальная непереносимость).

Таким образом, виротерапия — перспективное направление в лечении онкологических заболеваний, требующее дальнейшей разработки и усовершенствования методик онкологической вирусологии.

Список литературы/References

1. Васильева Н.С., Агеенко А.Б., Рихтер В.А., Кулигина Е.В. Сигнальные пути, определяющие эффективность терапии глиобластомы вирусом осповакцины // *Acta Naturae*. 2022. Т. 14, № 2. С. 62–69. [Vasilieva N.S., Ageenko A.B., Richter V.A., Kuligina E.V. Signal pathes defining the effectiveness of therapy of glioblastoma virus ospovaccine. *Acta Naturae*, 2022, vol. 14, no. 2, pp. 62–69. (In Russ.)] doi: 10.32607/actanaturae.11623
2. Ворошилова М.К. Вирусологические и иммунологические аспекты применения ЖЭВ при онкологических заболеваниях. В кн.: Полезные для организма непатогенные штаммы энтеровирусов: профилактическое и лечебное их применение // М.: Изд-во Минздрава СССР, 1988. С. 24–29. [Voroshilova M.K. Virologic and immunologic aspects of application of LEV in oncologic diseases. In Book: Non-pathogenic strains of enteroviruses useful for restriction: Prophylactic and therapeutic application. *Moscow: Publishing House of the Ministry of Health of the USSR*, 1988, pp. 24–29. (In Russ.)]
3. Габдрахманова А.Ф. Вирусный онколиз // *Таврический научный обозреватель*. 2017. Т. 18, № 1. С. 151–153. [Gabdrakhmanova A.F. Viral oncolysis. *Tavrisheskii nauchnyi obozrevatel' = Taurian Scientific Observer*, 2017, vol. 18, no. 1, pp. 151–153. (In Russ.)]
4. Зверева В.В., Бойченко М.Н. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. Т. 1. 448 с. [Zvereva V.V., Boychenko M.N. *Medical microbiology, virology and immunology*. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2014, vol. 1. 448 p. (In Russ.)]
5. Каирбаев М.Р., Болатбекова Р.О. Вирус папилломы человека и рак шейки матки // *Вестник КазНМУ*. 2016. № 4. С. 105–109. [Kairbaev M.R., Bolatbekova R.O. Human papilloma virus and cervical cancer. *Bulletin of KazNMU = Newsletter of KazNMU*, 2016, no. 4, pp. 105–109. (In Russ.)]
6. Кириенко В.Т., Зайцев И.А., Потий В.В., Нестерук Е.С. Парвовирусная инфекция в19v: обзор литературы. Часть 1 // *Актуальная инфектология*. 2019. Т. 7, № 5. С. 243–251. [Kirienko V.T., Zaitsev I.A., Potiy V.V., Nesteruk E.S. Parvovirus infection in19v: a review of the literature. Part 1. *Aktual'naâ Infektologîâ = Actual Infectology*, 2019, vol. 7, no. 5, pp. 243–251. (In Russ.)] doi: 10.22141/2312-413x.7.5.2019.183703
7. Кит О.И., Игнатов С.Н., Златник Е.Ю., Солдаткина Н.В., Росторгуев Э.Е., Сагакянц А.Б., Бондаренко Е.С., Ситковская А.О. Онколитическая виротерапия в лечении глиобластомы: достижения и проблемы клинических исследований // *Сибирский онкологический журнал*. 2020. Т. 19, № 6. С. 133–140. [Kit O.I., Ignatov S.N., Zlatnik E.Y., Soldatkina N.V., Rostorguyevich E.E., Sagakyants A.B., Bondarenko E.S., Sitkovskaya A.O. Oncolytic virotherapy in the treatment of glyublastoma: accomplishments and problems of clinical research. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal = Siberian Oncological Journal*, 2020, vol. 19, no. 6, pp. 133–140. (In Russ.)] doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-133-140
8. Клаан Н.К., Акиншина Л.П., Пронина Т.А. Онколитические вирусы в терапии злокачественных новообразований // *Российский биотерапевтический журнал*. 2018. Т. 17, № 4. С. 6–19. [Klaan N.K., Akinshina L.P., Pronina T.A. Oncolytic viruses in the therapy of malignant neoplasms. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal = Russian Biotherapeutic Journal*, 2018, vol. 17, no. 4, pp. 6–19. (In Russ.)] doi: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-6-19

9. Корман Д.Б. Эволюция лекарственной терапии меланомы // Вопросы онкологии. 2017. Т. 63, № 3. С. 358–367. [Korman D.B. Evolution of medical therapy of melanoma. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology*, 2017, vol. 63, no. 3, pp. 358–367. (In Russ.)]
10. Лапшина М.А., Пархоменко И.И., Терентьев А.А. Локализация белка p53 во фракциях хроматина и препаратах ядерного матрикса клеток различных типов // Вестник ННГУ. 2011. Т. 1, № 3. С. 138–144. [Lapshina M.A., Parkhomenko I.I., Terentyev A.A. Localization of p53 protein in chromatin fractions and nuclear matrix preparations of different cell types. *Vestnik NNGU = Bulletin of NNGU*, 2011, vol. 1, no. 3, pp. 138–144. (In Russ.)]
11. Лыжко Н.А. Молекулярно-генетические механизмы инициации, промоции и прогрессии опухолей // Российский биотерапевтический журнал. 2017. Т. 14, № 4. С. 7–17. [Lyzhko N.A. Molecular and genetic mechanisms of tumor initiation, promotion and progression. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal = Russian Biotherapeutic Journal*, 2017, vol. 14, no. 4, pp. 7–17. (In Russ.)] doi: 10.17650/1726-9784-2017-16-4-7-17
12. Масычева В.И., Белкина А.О., Даниленко Е.Д., Сысоева Г.М. Некоторые аспекты клинических испытаний препаратов фактора некроза опухоли // Российский биотерапевтический журнал. 2010. Т. 9, № 4. С. 39–44. [Masycheva V.I., Belkina A.O., Danilenko E.D., Sysoeva G.M. Some aspects of clinical trials of tumor necrosis factor preparations. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal = Russian Biotherapeutic Journal*, 2010, vol. 9, no. 4, pp. 39–44. (In Russ.)]
13. Непомнящих Т.С., Антоненц Д.В., Максютов Р.А. Краткий обзор клинических испытаний средств иммунотерапии онкологических заболеваний // Медицинская иммунология. 2017. Т. 19, № 2. С. 127–144. [Nepomnyashchikh T.S., Antonets D.V., Maksyutov R.A. A brief review of clinical trials of immunotherapy agents for cancer. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)* 2017, vol. 19, no. 2, pp. 127–144. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-2-127-144
14. Оппедизано М.Д.Л., Нартова А.А. Онколитические вирусы: новый подход к иммунотерапии злокачественных новообразований // Forcipe. 2021. Т. 4, № S1. [Oppedizano M.D.L., Nartova A.A. Oncolytic viruses: a new approach to immunotherapy of malignant neoplasms. *Forcipe*. 2021, vol. 4, no. S1. (In Russ.)] URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/onkoliticheskie-virusy-novyy-podhod-k-immunoterapii-zlokachestvennyh-novoobrazovaniy>
15. Слепцова С.С., Рахманова А.Г., Шаройко В.В. Роль вирусных гепатитов в развитии первичного рака печени в Якутии // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2015. Т. 12, № 3. С. 76–82. [Sleptsova S.S., Rakhmanova A.H., Sharoiiko V.V. Role of viral hepatitis in the development of primary liver cancer in Yakutia. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2015, vol. 12, no. 3, pp. 76–82. (In Russ.)]
16. Соколова М.Г. Исследование активности антиапоптотического белка Bcl-2 у детей, больных детским церебральным параличом // Universum: медицина и фармакология. 2015. Т. 16, № 3. [Sokolova M.G. Study of the activity of anti-apoptotic protein Bcl-2 in children with cerebral palsy. *Universum: meditsina i farmakologiya = Universum: Medicine and Pharmacology*, 2015, vol. 16, no. 3. (In Russ.)] URL: <https://7universum.com/ru/med/archive/item/1996>
17. Уразова Л.Н., Кузнецова Т.И. Онколитические вирусы в онкологии // Сибирский онкологический журнал. 2003. № 4. С. 28–35. [Urazova L.N., Kuznetsova T.I. Oncolytic viruses in oncology. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal = Siberian Oncological Journal*, 2003, no. 4, pp. 28–35. (In Russ.)] URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/onkoliticheskie-virusy-v-onkologii>
18. Юрченко К.С., Губанова Н.В., Шестопалова Л.В., Шелканов М.Ю., Шестопалов А.М. Онколитические свойства вируса болезни Ньюкасла // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. Т. 61, № 3. С. 14–18. [Yurchenko K.S., Gubanova N.V., Shestopalova L.V., Shchelkanov M.Y., Shestopalov A.M. Oncolytic properties of Newcastle disease virus. *Tihookeanskiy medicinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2015, vol. 61, no. 3, pp. 14–18. (In Russ.)]
19. Al-Shammari A.M., Piccaluga P.P. Editorial: Oncolytic virotherapy. *Front. Mol. Biosci.*, 2023, no. 10: 1287885. doi: 10.3389/fmolb.2023.1287885
20. Andtbacka R.H., Agarwala S.S., Ollila D.W., Hallmeyer S., Milhem M., Amatruda T., Nemunaitis J.J., Harrington K.J., Chen L., Shilkrut M., Ross M., Kaufman H.L. Cutaneous head and neck melanoma in OPTiM, a randomized phase 3 trial of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for the treatment of unresected stage IIIB/IIIC/IV melanoma. *Head Neck*, 2016, vol. 38, no. 12, pp. 1752–1758. doi: 10.1002/hed.24522
21. Charkaoui M., Hajage D., Tubach F., Beaugerie L., Kirchgessner J. Impact of anti-tumour necrosis factor agents on the risk of colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: nationwide french cohort study. *J. Crohns Colitis*, 2022, vol. 16, no. 6, pp. 893–899. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjab184
22. De Pace N. On the disappearance of a cancovervegetative enome of the cervix without surgical treatment. *Gynecology*, 1912, vol. 9, pp. 82–89.
23. Dock G. The influence of complicating diseases upon leukemia. *Am. J. Int. J. Med. Sci.*, 1904, no. 127, pp. 563–592.
24. Dolgin E. Oncolytic viruses get a boost with first FDA-approval recommendation. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2015, vol. 14, no. 6, pp. 369–371. doi: 10.1038/nrd4643.
25. Georgi F., Greber U.F. The Adenovirus Death Protein — a small membrane protein controls cell lysis and disease. *FEBS Lett.*, 2020, vol. 594, no. 12, pp. 1861–1878. doi: 10.1002/1873-3468.13848
26. Goradel N.H., Baker A.T., Arashkia A., Ebrahimi N., Ghorghanlu S., Negahdari B. Oncolytic virotherapy: challenges and solutions. *Curr. Probl. Cancer*, 2021, vol. 45, no. 1: 100639. doi: 10.1016/j.currprobcancer.2020.100639
27. Haddad D. Genetically engineered vaccinia viruses as agents for cancer treatment, imaging, and transgene delivery. *Front. Oncol.*, 2017, no. 7: 96. doi: 10.3389/fonc.2017.00096
28. Hoeller C., Michielin O., Ascierto P.A., Szabo Z., Blank C.U. Systematic review of the use of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with advanced melanoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2016, vol. 65, no. 9, pp. 1015–1034. doi: 10.1007/s00262-016-1860-3
29. Kim J., Li Y., Kim S.W., Lee D.S., Yun C.O. Therapeutic efficacy of a systemically delivered oncolytic adenovirus–biodegradable polymer complex. *Biomaterials*, 2013, vol. 34, no. 19, pp. 4622–4631. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.004
30. Kirn D.H., Thorne S.H. Targeted and armed oncolytic poxviruses: a novel multi-mechanistic therapeutic class for cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2009, vol. 9, no. 1, pp. 64–71. doi: 10.1038/nrc2545

31. Lang F.F., Conrad C., Gomez-Manzano C., Yung W.K.A., Sawaya R., Weinberg J.S., Prabhu S.S., Rao G., Fuller G.N., Aldape K.D., Gumin J., Vence L.M., Wistuba I., Rodriguez-Canales J., Villalobos P.A., Dirven C.M.F., Tejada S., Valle R.D., Alonso M.M., Ewald B., Peterkin J.J., Tufaro F., Fueyo J. Phase I Study of DNX-2401 (Delta-24-RGD) oncolytic adenovirus: replication and immunotherapeutic effects in recurrent malignant glioma. *J. Clin. Oncol.*, 2018, vol. 36, no. 14, pp. 1419–1427. doi: 10.1200/JCO.2017.75.8219
32. Li L., Liu S., Han D., Tang B., Ma J. Delivery and biosafety of oncolytic virotherapy. *Front. Oncol.*, 2020, no. 10: 475. doi: 10.3389/fonc.2020.00475
33. Li Z., Feiyue Z., Gaofeng L., Haifeng L. Lung cancer and oncolytic virotherapy — enemy's enemy. *Transl. Oncol.*, 2023, no. 27: 101563. doi: 10.1016/j.tranon.2022.101563
34. Livshits Z., Rao R.B., Smith S.W. An approach to chemotherapy-associated toxicity. *Emerg. Med. Clin. North Am.*, 2014, vol. 32, no. 1, pp. 167–203. doi: 10.1016/j.emc.2013.09.002
35. Marchica V., Costa F., Donofrio G., Giuliani N. Oncolytic virotherapy and microenvironment in multiple myeloma. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 5: 2259. doi: 10.3390/ijms22052259
36. Mullen J.T., Tanabe K.K. Viral oncolysis. *Oncologist*, 2002, vol. 7, no. 2, pp. 106–119. doi: 10.1634/theoncologist.7-2-106
37. Russell S.J., Peng K.W., Bell J.C. Oncolytic virotherapy. *Nat. Biotechnol.*, 2012, vol. 30, no. 7, pp. 658–670. doi: 10.1038/nbt.2287
38. Schmidt C. Amgen spikes interest in live virus vaccines for hard-to-treat cancers. *Nat. Biotechnol.*, 2011, vol. 29, no. 4, pp. 295–296. doi: 10.1038/nbt0411-295
39. Tedcastle A., Cawood R., Di Y., Fisher K.D., Seymour L.W. Virotherapy — cancer targeted pharmacology. *Drug Discov. Today*, 2012, vol. 7, no. 5–6, pp. 215–220. doi: 10.1016/j.drudis.2011.12.011
40. Vorobyeva I.V., Zhirnov O.P. Modern approaches to treatment of cancer with oncolytic viruses. *MIR Journal*, 2022, vol. 9, no. 1, pp. 91–112. doi: 10.18527/2500-2236-2022-9-1-91-112
41. Wilkinson M.J., Smith H.G., Pencavel T.D., Mansfield D.C., Kyula-Currie J., Khan A.A., McEntee G., Roulstone V., Hayes A.J., Harrington K.J. Isolated limb perfusion with biochemotherapy and oncolytic virotherapy combines with radiotherapy and surgery to overcome treatment resistance in an animal model of extremity soft tissue sarcoma. *Int. J. Cancer*, 2016, vol. 139, no. 6, pp. 1414–1422. doi: 10.1002/ijc.30162
42. Zhirnov O.P. Biochemical variations in cytolytic activity of ortho- and paramyxoviruses in human lung tumor cell culture. *Biochemistry (Mosc.)*, 2017, vol. 82, no. 9, pp. 1048–1054. doi: 10.1134/S0006297917090085
43. Zraik I.M., Heß-Busch Y. Management von Nebenwirkungen der Chemotherapie und deren Langzeitfolgen [Management of chemotherapy side effects and their long-term sequelae]. *Urologe A*, 2021, vol. 60, no. 7, pp. 862–871. (In German). doi: 10.1007/s00120-021-01569-7

Автор:

Власова Л.Д., студентка Института профилактической медицины ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара, Россия.

Author:

Vlasova L.D., Student of Institute of Preventive Medicine, Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Samara, Russian Federation.

Поступила в редакцию 07.06.2024
Отправлена на доработку 15.08.2024
Принята к печати 08.09.2024

Received 07.06.2024
Revision received 15.08.2024
Accepted 08.09.2024

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ХРОНИЧЕСКИМ РИНОСИНУСИТОМ И ТЯЖЕСТЬЮ ТЕЧЕНИЯ COVID-19

Е.В. Любимова¹, Е.Л. Савлевич², А.В. Зурочка^{3,4}, Е.С. Митрофанова⁵

¹ООО «ЛОР клиника», г. Екатеринбург, Россия

²ФГБУ Клиническая больница Управления делами Президента РФ, Москва, Россия

³ФГБУН Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

⁴ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия

⁵Академия постдипломного образования ФГБУ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Резюме. Обзор посвящен влиянию хронического риносинусита (ХРС) на восприимчивость вируса SARS-CoV-2 и течения заболевания COVID-19. Гетерогенность ХРС, подразделяющегося на ХРС без полипов и полипозный риносинусит (ПРС), определяется разными типами воспалительного ответа, лежащего в основе этих заболеваний. При эозинофильном ПРС гиперсекреция интерлейкинов (IL)-4, IL-5 и IL-13 снижает выработку специфических клеточных белков-мишеней для прикрепления SARS-CoV-2 — рецепторов ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ)-2, что должно уменьшать риск инфицирования. При нейтрофильном ПРС или ХРС без полипов преобладают иммунные реакции I типа, с активацией Th-1 клеток, гиперсекрецией интерферона (IFN)- γ и фактора некроза опухоли (TNF)- α , что повышает экспрессию АСЕ2. Но есть данные, что гипоксемия и поражение легочной системы у пациентов с ПРС не отличались от пациентов с ХРС без полипов. Противоречия в литературе могут быть связаны с различиями в доступности медпомощи, лечения бронхиальной астмы (БА), частотой ПЦР-тестирования. Такая же ситуация по влиянию использования местных или системных глюкокортикостероидов (ГКС) на риск заражения SARS-CoV-2. Одни считают, что ГКС могут увеличивать тяжесть и смертность пациентов при развитии COVID-19, вероятно, за счет снижения факторов местного врожденного иммунного ответа слизистой оболочки. По другим данным ГКС могут оказывать защитное действие, снижая экспрессию АСЕ2 в тканях носа, или взаимосвязь предшествующего приема системных или топических ГКС с заболеваемостью COVID-19 и частотой лечения в отделении интенсивной терапии отсутствует. Биологическая терапия ПРС и БА моноклональными антителами не увеличила риск тяжелой формы и смертности при COVID-19, и хотя данных на текущий момент немного, авторы рекомендуют не прерывать это лечение во время эпидемии, также как и прием блокаторов лейкотриеновых рецепторов, которые могут дополнительно ингибировать основную протеазу (Mpro) вируса SARS-CoV-2. Хотя согласно международным документам по лечению COVID-19, биопрепараты, применяемые при ПРС и БА, должны отменяться до полного выздоровления пациента. Проведение аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) следует прервать при заражении

Адрес для переписки:

Савлевич Елена Леонидовна
121359, Россия, Москва, ул. Маршала Тимошенко 19, стр. 1А,
ФГБУ ДПО Центральная государственная медицинская академия
Управления делами Президента РФ.
Тел.: 8 985 145-27-45. E-mail: savllena@gmail.com

Contacts:

Elena L. Savlevich
121359, Russian Federation, Moscow, Marshala Timoshenko str., 19,
build. 1A, Central State Medical Academy of Department for
Presidential Affairs of the Russian Federation.
Phone: +7 985 145-27-45. E-mail: savllena@gmail.com

Для цитирования:

Любимова Е.В., Савлевич Е.Л., Зурочка А.В., Митрофанова Е.С.
Взаимосвязь между хроническим риносинуситом и тяжестью течения
COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1070–1078.
doi: 10.15789/2220-7619-ARB-16667

Citation:

Lyubimova E.V., Savlevich E.L., Zurochka A.V., Mitrofanova E.S. A relation
between chronic rhinosinusitis with nasal polyps and COVID-19 course //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024,
vol. 14, no. 6, pp. 1070–1078. doi: 10.15789/2220-7619-ARB-16667

SARS-CoV-2 из-за увеличения Th-1 ответа и вероятности развития тяжелого течения COVID-19. У перенесших COVID-19 пациентов сохраняются нарушения в иммунной системе что, возможно, может менять течение ХРС и требует формирования другого подхода к лечению таких больных. В то же время исследования таких больных пока не проводились. В мировой литературе постепенно накапливается информация по механизмам нарушений у таких больных, в том числе, с ХРС, что требует появления новых подходов к их терапии.

Ключевые слова: хронический риносинусит, полипозный риносинусит, COVID-19, SARS-CoV-2, ангиотензинпревращающий фермент (ACE)-2, системные глюкокортикостероиды, топические глюкокортикостероиды, частота госпитализации, биологическая терапия, постковидный синдром.

A RELATION BETWEEN CHRONIC RHINOSINUSITIS WITH NASAL POLYPS AND COVID-19 COURSE

Lyubimova E.V.^a, Savlevich E.L.^b, Zurochka A.V.^{c,d}, Mitrofanova E.S.^e

^a LLC "LOR Clinic", Yekaterinburg, Russian Federation

^b Clinical Hospital of Department of Presidential Affairs, Moscow, Russian Federation

^c Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

^d South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

^e Academy of Postgraduate Education of the "Federal Scientific and Clinical Center of Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies" of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Abstract. The data on impact of chronic rhinosinusitis (CRS) on SARS-CoV-2 virus susceptibility and COVID-19 course were reviewed. CRS heterogeneity is determined by different types of inflammatory response. A heterogeneous CRS is divided into CRS without polyps and with nasal polyps (CRSwNP) is accounted for by diverse underlying immune responses. Hypersecretion of interleukins (IL)-4, IL-5, IL-13 in eosinophilic CRSwNP downmodulates angiotensin-converting enzyme (ACE)-2 receptor expression that should reduce SARS-CoV-2 infection risk because ACE2 is a main cellular tropism factor for SARS-CoV-2. In neutrophilic CRS type 1 immune response predominates, with activation of Th-1 cells, hypersecretion of interferon (IFN)- γ and tumor necrosis factor (TNF)- α to increase ACE2 expression. However, another data also show that hypoxemia level and pulmonary system damage did not differ between patients with CRS and CRS without polyps. Literature contradictions may be related to differences in availability of medical care, treatment of bronchial asthma (BA) as well as coverage of PCR testing. Regarding use of local or systemic glucocorticosteroids (GCS) effect on SARS-CoV-2 infection risk, some authors believe that GCS may increase COVID-19 severity and mortality, probably by downmodulating local innate immune response factors. According to other data, GCS may reduce ACE2 expression, or there is no relationship between previous GCS use, the incidence of COVID-19 and the frequency of treatment in the intensive care unit. Biological therapy of CRSwNP and BA with monoclonal antibodies did not aggravate COVID-19 severity and mortality risk. Although such data are currently limited, authors recommend not to interrupt such treatment during the epidemic, as well as continue taking leukotriene receptor blockers that can further inhibit major protease (Mpro) of the SARS-CoV-2 virus. However, according to international guidelines on COVID-19 treatment, using CRSwNP and asthma biological therapy should be discontinued until the patients recover completely. Allergen-specific immunotherapy (ASIT) should be interrupted in the case of confirmed COVID-19 due to a probability of developing severe COVID-19. After COVID-19, disturbances in the immune system may persist and possibly change the course of CRS, therefore requiring to modify therapeutic approaches for such patients. At the same time, the worldwide literature has been gradually accumulating information on pathogenesis underlying alterations in such patients including those with CRS, which requires development of new therapeutic approaches.

Key words: chronic rhinosinusitis, chronic rhinosinusitis with nasal polyps, COVID-19, SARS-CoV-2, angiotensin-converting enzyme (ACE)-2, local glucocorticosteroid, systemic glucocorticosteroid, frequency of hospitalization, biological therapy, post-COVID syndrome.

По статистическим данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) на 7 июля 2024 г. в мире было зарегистрировано 775 754 332 подтвержденных случаев COVID-19. Из них в Российской Федерации в период с 3 января 2020 по 7 июля 2024 г. — 24 238 177 (3,12%), из которых смертельным исходом закончились 403 091 (1,66%) случаев [39]. SARS-CoV-2 первоначально считался инфекционным агентом,

поражающим нижние дыхательные пути, поскольку COVID-19 проявлялся пневмонией, развитием респираторного дистресс-синдрома и острой дыхательной недостаточности. Но достаточно быстро было выявлено одномоментное поражение верхних отделов респираторного тракта, симптомы которого в основном были легкой или средней степени тяжести. К ним относятся ринорея, заложенность носа,

боль в горле, сухой или малопродуктивный кашель, внезапная anosmia или гипосмия [25]. Течение заболевания от бессимптомного до тяжелого с летальным исходом зависит не только от разной восприимчивости к патогену у каждого конкретного человека, но и от влияния сопутствующей патологии. Доказано, что у пациентов, особенно возрастной группы > 60 лет, страдающих сахарным диабетом, ожирением, хронической патологией почек, заболеваниями сердечно-сосудистой системы, в том числе гипертонической болезнью, возрастает риск неблагоприятного прогноза по прогрессированию COVID-19 (высокий индекс коморбидности). Индивидуальная восприимчивость к SARS-CoV-2 обусловлена особенностями патогенеза заболевания, развитие которого начинается со взаимодействия выступающего на поверхности вируса спайкового белка S с рецептором ангиотензинпревращающего фермента (ACE)-2 [20]. Этому способствует белок трансмембранная протеаза серин (TMPRSS)-2, который расщепляет спайковый белок коронавируса на фрагменты S1 и S2, тем самым обеспечивая проникновение вируса в клетку за счет слияния клеточных мембран. Следовательно, основным фактором клеточного тропизма является уровень экспрессии ACE2 рецептора.

Реснитчатые и бокаловидные клетки эпителия полости носа и околоносовых пазух, эпителиальные клетки слизистой оболочки полости рта, голосовых складок, альвеолоциты II типа, а также энтероциты тонкой кишки, перициты и эндотелиоциты демонстрируют самые высокие уровни ACE2, напротив, его экспрессия не обнаружена в большинстве иммунных клеток, включая CD4⁺ Т-клетки, макрофаги и В-клетки. Теоретически, в связи с такой локализацией ACE2 рецепторов пациенты с хроническими заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей должны болеть чаще и тяжелее, учитывая уже имеющуюся при этой патологии дисфункцию эпителиального барьера, нарушение мукоцилиарного клиренса, бактериальную колонизацию [4]. Однако полученные в различных странах данные о заболеваемости коронавирусной инфекцией пациентов с хроническим риносинуситом (ХРС) неоднозначны и крайне противоречивы. Возможно, особенно в отношении пациентов с полипозным риносинуситом (ПРС), это связано с разными типами локального воспаления — неэозинофильным (нейтрофильным) и эозинофильным [8].

В Китае определили, что неэозинофильный ПРС сопровождается большей чувствительностью к инфекции SARS-CoV-2, чем эозинофильный [41]. Это объясняется тем, что эозинофильный тип заболевания обычно связан

с воспалением Th-2 типа, опосредованным синтезирующимися в тканях носовых полипов интерлейкинами (IL)-4, IL-5 и IL-13 [10], которые снижают экспрессию ACE2 в эпителиоцитах полости носа, и, следовательно, могут уменьшать риск инфицирования. В Японии провели исследование экспрессии мРНК ACE2 при ПРС на фоне обострения сезонного аллергического ринита (АР), вызванного пылью японского кедр. Ученые обнаружили, что средние уровни экспрессии ACE2 при обострении АР не увеличились, поэтому обострение респираторной аллергии не рассматривается ими как фактор риска заражения SARS-CoV-2 [31].

Несмотря на то что уровень эозинофилов крови не коррелирует с их количеством в ткани носовых полипов [9], была найдена отрицательная обратная связь между эозинофилией крови и экспрессией рецепторов ACE2 на поверхности эпителиоцитов [18].

При нейтрофильном варианте гистологического строения полипов полости носа преобладают иммунные реакции Th-1 типа, связанные с интерфероном (IFN)- γ [33]. SARS-CoV-2 также активирует Th-1 клетки, а, следовательно, приводит к гиперсекреции IFN γ , фактора некроза опухоли (TNF)- α . Эти белки увеличивают экспрессию ACE2, в результате чего повышается восприимчивость к коронавирусу [36]. Поэтому местное воспаление с повышенным содержанием IFN γ у пациентов с ХРС может увеличивать риск заражения SARS-CoV-2 [42]. Следовательно, ХРС без полипов и без сопутствующего АР может являться фактором риска заражения SARS-CoV-2 и более тяжелого течения COVID-19 в отличие от пациентов с ПРС или с ХРС при наличии сопутствующего АР [26]. Таким образом, преобладание Th-1 или Th-2 типа локального иммунологического ответа в слизистой оболочке полости носа может влиять на количество рецепторов ACE2 и играть определенную роль в ухудшении состояния при SARS-CoV-2-инфекции.

Отмечено, что схожесть клинического проявления обострения ХРС и легкого течения COVID-19 в виде гипосмии или anosmia, постоянного или периодического характера выделений из носа, затруднения носового дыхания приводила к тому, что пациенты с ХРС чаще обращались в медицинские учреждения в период пандемии для исключения заражения коронавирусом. Также сами больные ХРС, которые получали терапию в виде системных или интраназальных глюкокортикостероидов (ГКС), были обеспокоены тем, что их восприимчивость к инфекции может увеличиться. Поэтому в некоторых регионах уровень ПЦР-тестирования на COVID-19 был почти в 2 раза выше именно среди пациентов с ХРС, чем в остальной попу-

ляции [38]. Благодаря этому в ходе массового тестирования в США на наличие РНК вируса SARS-CoV-2 в мазках из носа и ротоглотки была возможность проанализировать большую группу из 12 000 пациентов с ХРС и сопоставить полученные данные с аналогичной группой пациентов без него. В результате ученые не обнаружили статистических различий в заболеваемости COVID-19, что позволило американским коллегам не считать больных с ХРС более уязвимыми для SARS-CoV-2 [38].

У больных с COVID-19 и ХРС в Китае частота встречаемости БА оказалась выше, чем группе пациентов без ХРС (6,9% vs 2,2%; $P = 0,01$), а распространенность основных сопутствующих заболеваний, таких как гипертоническая болезнь, сахарный диабет, злокачественные новообразования и хроническая обструктивная болезнь, достоверно не отличалась. Кроме того, не было существенной разницы в результатах большинства лабораторных анализов, включая уровень нейтрофилов, лимфоцитов и эозинофилов крови, D-димера, IL-8, тропонина. Аналогичными оказались тяжесть заболевания при поступлении, частота применения искусственной вентиляции легких (ИВЛ), количество дней госпитализации. Есть данные, что гипоксемия и поражение легочной системы у пациентов с ПРС не отличались от пациентов с ХРС без полипов [15]. Все это позволило авторам сделать вывод об отсутствии влияния ХРС на течение COVID-19 [34].

Совершенно противоположные результаты получены в других научных коллективах. В Южной Корее при исследовании пациентов с ХРС без полипов и без сопутствующего АР, обнаружен более высокий уровень инфицирования SARS-CoV-2, отмечено более тяжелое течение COVID-19 по сравнению с больными ПРС или АР [26]. В ретроспективном когортном исследовании, выполненном в клинике Кливленда (США), у больных с COVID-19, которым госпитализация не потребовалась, ХРС наблюдался реже, чем у госпитализированных пациентов — 4,35% и 7,81% соответственно. Вероятность госпитализации пациентов с ХРС оказалась в 3,46 раза выше по сравнению с пациентами без него [30].

Как известно, ПРС — это хроническое заболевание, при котором пациентам необходимо динамическое наблюдение и лечение у отоларинголога в течение всей жизни. Такие больные практически постоянно получают медикаментозное лечение согласно алгоритму ступенчатой терапии [13], которое в период пандемии COVID-19 тоже может оказать влияние на течение этой инфекции. Накопленные сведения о влиянии лекарственных препаратов при лечении ПРС также неоднозначны.

Интересен факт, что у пациентов с ХРС, принимающих пероральные ГКС и без этого лечения в течение 14–28 дней до взятия ПЦР-мазков, нет статистически значимой разницы по частоте заражения SARS-CoV-2 [27]. По другим данным ГКС даже могут оказывать защитное действие от коронавируса, снижая экспрессию ACE2 и TMPRSS2 в тканях носа при респираторных аллергических заболеваниях или ХРС [15, 22, 29], хотя ряд авторов отмечает отсутствие изменений экспрессии мРНК ACE2 в эпителиальных клетках носа при использовании назальных или системных ГКС [22, 35]. Бельгийские коллеги получили достоверную информацию об отсутствии взаимосвязи предшествующего приема системных ГКС и частотой лечения в отделении интенсивной терапии [17].

В другой работе продемонстрирована иная закономерность. Использование противовоспалительной терапии с местным или системным применением ГКС в качестве базового стандарта при ХРС обоих типов изменяет ответ на инфекцию SARS-CoV-2 [24]. В случае заболевания таких пациентов коронавирусной инфекцией, степень тяжести ее течения и уровень смертности были выше, особенно при приеме системных ГКС за 14 дней до госпитализации [37], что объяснялось снижением факторов местного врожденного иммунного ответа слизистой оболочки, который и так нарушен при ХРС любого типа [4], и уменьшением клиренса вирусов в эпителиоцитах [32]. В то же время пациентам, страдающим АР, рекомендовано продолжать лечение интраназальными ГКС вне зависимости от заражения COVID-19. Для сохранения медикаментозного контроля ХРС во время пандемии COVID-19 можно продолжать терапию топическими ГКС, а рутинного применения системных кортикостероидов следует избегать [24].

Также для лечения пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением ПРС в сочетании с РА или БА в схему ступенчатой терапии входит монтелукаст — ингибитор лейкотриеновых рецепторов [13]. Сообщалось, что данный препарат может частично ингибировать основную протеазу (Mpro) вируса SARS-CoV-2. Этот противовирусный эффект одновременно с противоаллергическим и противовоспалительным свойствами препарата подразумевает продолжение терапии во время эпидемии вне зависимости от заражения COVID-19 [21].

Как уже говорилось ранее, при Th-2 воспалении в ткани носовых полипов наблюдается увеличение количества эозинофилов, повышенные уровни IL-4, IL-5, IL-13, снижена экспрессия ACE2 рецепторов. Теоретически лечение генно-инженерными биопрепаратами, применяемыми

при ПРС против эозинофилов и ключевых интерлейкинов [5, 6, 12], должно привести к увеличению ACE2 рецепторов и повышению риска заражения COVID-19. Однако в Испании в группе из 545 человек, находящихся на биотерапии по поводу БА, не было увеличения количества тяжелых форм и смертности от коронавирусной инфекции [28]. Хотя в позиционном документе Европейской академии аллергологии и клинической иммунологии по ведению хронического риносинусита во время пандемии COVID-19 у пациентов с ПРС, получающих биологические препараты, рекомендуется прекратить их прием до полного выздоровления пациентов с симптомами COVID-19, или должна быть тщательно проведена оценка соотношения риска и пользы [40]. С другой стороны, уже имеются работы, в которых доказано, что биологические препараты не повышают риск заражения и не ухудшают исходы COVID-19 [23], а у пациентов, прекративших монотерапию дупилумабом по причинам, связанным с COVID-19, наблюдалось аналогичное течение заболевания по сравнению с пациентами, продолжающими терапию дупилумабом. Поэтому отмена биотерапии ставится под сомнение. Повышенный уровень IL-13 был связан с риском необходимости ИВЛ у 2-х независимых групп пациентов. Кроме того, у пациентов, которые заразились COVID-19 при назначении дупилумаба, блокирующего передачу сигналов IL-13 и IL-4, течение заболевания было менее тяжелым [19].

Проведение аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) включено в схему ступенчатой терапии ПРС при сочетании этого заболевания с РА. При проведении АСИТ, как известно, снижается проявление реакций Th-2 воспаления в балансе Th-1/Th-2, что позволяет обеспечить иммунологическую толерантность к специфическим аллергенам. Возможное доминирование Th-1 после АСИТ может привести к тяжелому течению COVID-19, так как проявления цитокинового шторма как раз и связано с иммунологическими реакциями 1 типа. Поэтому в случае подтвержденного COVID-19 следует прервать АСИТ [16].

Такие противоречивые факты о взаимном влиянии ПРС и коронавирусной инфекции подтолкнули нас к изучению заболеваемости COVID-19 в наблюдаемой группе пациентов на базе хирургического отделения с дневным стационаром МОНИКИ в период с 2016 по 2023 гг. [7]. В нее вошли 99 больных ПРС, 48 мужчин и 51 женщина, средний возраст которых составил $58,37 \pm 14,43$ лет. Были зарегистрированы все случаи заражения COVID-19 по результатам полимеразной цепной реакции (ПЦР) мазка из ротоглотки и полости носа. У переболевших пациентов были изучены вы-

писки из медицинских карт для определения степени тяжести течения коронавирусной инфекции.

Из 99 пациентов 36 человек (36,36% — 22 женщины и 14 мужчин), не болели коронавирусной инфекцией. Легкое течение COVID-19 наблюдалось у 53 человек (53,54% от общего числа пациентов), основными проявлениями которого были усиление заложенности носа, ринореи, степени снижения обоняния, першение и боль в горле, непродолжительный субфебрилитет, кашель, миалгия, кратковременное снижение вкусовой чувствительности, диспепсические нарушения. Некоторых пациентов беспокоило ощущение заложенности в грудной клетке, но без появления одышки. Таким больным была выполнена компьютерная томография органов грудной клетки (КТ ОГК), по результатам которой рентгенологические проявления поражения легочной ткани составили менее 25% (КТ-1) или отсутствовали (КТ-0).

У 8,08% пациентов (8 человек, 4 мужчины и 4 женщины) зарегистрировано среднетяжелое течение коронавирусной инфекции, при котором наблюдалось повышение температуры тела более 38°C продолжительностью до 8 суток, одышка при бытовой физической нагрузке, кашель различной интенсивности, общая слабость и симптомы, перечисленные при легком течении COVID-19. Степень обнаруженных изменений легочной паренхимы по результатам выполненной КТ ОГК соответствовала КТ-1 (менее 25%) или КТ-2 (25–50%).

Тяжелое течение коронавирусной инфекции у больных с ПРС наблюдалось лишь в 2,02% случаев (2 человека) в общей когорте пациентов. К перечисленным выше клиническим симптомам заболевания присоединились более выраженная одышка при физической нагрузке или в состоянии покоя, тахипноэ до 32 в минуту, повышение температуры тела более 39°C дольше 5 дней, состояние сопора (сонливость, частичная дезориентация, задержка ответа на вопросы).

Среди всех переболевших COVID-19 пациентов с ПРС в основном инфекция протекала в легкой форме — это 84,1% случаев. Средняя степень тяжести течения наблюдалась в 12,7%, а тяжелая — в 3,2% случаев. Из числа переболевших 39 человек (62,5%) были вакцинированы от коронавирусной инфекции до заражения. Общее количество привитых пациентов в наблюдаемой когорте равно 52 человека (52,53%). Интересен и тот факт, что средний возраст переболевших COVID-19 был равен $53,81 \pm 2,85$ лет, а возраст пациентов, которые не заразились этой инфекцией, — $62,5 \pm 13,1$ лет.

Тяжелое течение коронавирусной инфекцией наблюдалось в двух женщин $40,0 \pm 0$ лет с со-

четанием ПРС, АР и непереносимостью нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Так как эти пациентки заразились SARS-CoV-2 в первую волну заболеваемости, они не были вакцинированы. После перенесенной инфекции у них наблюдалась неэффективность проводимого курса консервативного лечения, включающего интраназальные и системные ГКС, блокаторы лейкотриеновых рецепторов, ирригационную терапию, проведено хирургическое лечение в объеме FESS. Далее они стали получать лечение биологическими препаратами.

В работах российских и китайских авторов по исследованию постковидных нарушений у переболевших SARS-CoV-2-инфекцией примерно у 60% человек через 6–12 месяцев после заболевания происходит формирование тех или иных повреждений иммунной системы. Были выявлены фенотипы повреждений, связанных с нарушением формирования В1-клеток памяти, цитотоксических Т-клеток, натуральных киллеров, клеток, несущих рецепторы к CD46, поражения фагоцитарной системы, несмотря на сохранение спектра специфических иммуноглобулинов [1, 2, 3, 14, 43]. Эти исследования говорят о том, что у перенесших COVID-19 пациентов сохраняются нарушения в иммунной системе и, возможно, при наличии ПРС у таких

больных, у которых также есть изменения клеточного системного иммунитета в зависимости от степени медикаментозного контроля [11], может измениться частота обострения хронического воспалительного процесса, что требует формирования другого подхода к лечению таких больных.

Таким образом, SARS-CoV-2 инфекция как в острый, так и постковидный период оказывает выраженное влияние на клетки иммунной системы и продукты их секреции (цитокины), все это не может не сказываться на хронических воспалительных процессах дыхательных путей, имевшихся у пациентов до этого заболевания.

Перенесенный COVID-19 в ряде случаев утяжеляет течение ПРС, что как раз может быть расценено как постковидный синдром. В мировой литературе постепенно накапливается информация по изменению иммунопатогенеза нарушений у таких больных для последующей разработки новых подходов к их терапии.

С другой стороны, наличие ХРС, как по мнению большинства авторов, так и по результатам проведенного нами исследования, не приводит к учащению заражения SARS-CoV-2 и не утяжеляет течение COVID-19, за исключением больных с тяжелыми формами ПРС, нечувствительных к стандартной терапии кортикостероидами.

Список литературы/References

1. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Зурочка В.А., Сарапульцев А.П. Нарушение В-клеточного звена иммунной системы и связанных с ним нарушений иммунитета у постковидных пациентов // Российский иммунологический журнал. 2023. Т. 26, № 3. С. 241–250. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Zurochka V.A., Sarapultsev A.P. Disturbances in the B cell component of immune system and associated immune alterations in post-COVID patients. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, vol. 26, no. 3, pp. 241–250. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-9636-DIT
2. Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Ло Ш. Исследование нарушения натуральных киллеров у пациентов, перенесших COVID-19 // Российский иммунологический журнал. 2022. Т. 25, № 2. С. 161–166. [Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Luo S. Impairment of natural killer populations in the patients recovered from COVID-19. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, vol. 25, no. 2, pp. 161–166. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1132-ION
3. Добрынина М.А., Ибрагимов Р.В., Крицкий И.С., Верховская М.Д., Мосунов А.А., Сарапульцев Г.П., Зурочка А.В., Зурочка В.А., Сарапульцев А.П., Комелькова М.В., Рябова Л.В., Праскурничий Е.А. Постковидный синдром иммунопатологии. Характеристика фенотипических изменений иммунной системы у постковидных пациентов // Медицинская иммунология. 2023. Т. 25, № 4. С. 791–796. [Dobrynina M.A., Ibragimov R.V., Kritsky I.S., Verkhovskaya M.D., Mosunov A.A., Sarapultsev G.P., Zurochka A.V., Zurochka V.A., Sarapultsev A.P., Komelkova M.V., Ryabova L.V., Praskurnichiy E.A. Post-COVID immunopatology syndrome: characteristics of phenotypical changes in the immune system in post-COVID patients. *Meditinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, vol. 25, no. 4, pp. 791–796. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-PCI-2707
4. Егоров В.И., Савлевич Е.Л. Место врожденного иммунитета в развитии хронического риносинусита и перспективы тактики консервативного лечения // Альманах клинической медицины. 2016. Т. 44, № 7. С. 850–856. [Egorov V.I., Savlevich E.L. The role of innate immunity in the development of chronic rhinosinusitis and perspectives of its conservative management. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny = Almanac of Clinical Medicine*, 2016, vol. 44, no. 7, pp. 850–856. (In Russ.)] doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-7-850-856
5. Коркмазов М.Ю., Ленгина М.А., Дубинец И.Д., Кравченко А.Ю., Клепиков С.В. Некоторые иммунологические аспекты таргетной терапии полипозного риносинусита // Российский иммунологический журнал. 2023. Т. 26, № 3. С. 301–306. [Korkmazov M.Yu., Lengina M.A., Dubinets I.D., Kravchenko A.Yu., Klepikov S.V. Some immunological aspects of targeted therapy in polypous rhinosinusitis. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, vol. 26, no. 3, pp. 301–306. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-8955-SIA

6. Коркмазов М.Ю., Ленгина М.А., Коркмазов А.М., Кравченко А.Ю. Влияние постковидного синдрома на качество жизни пациентов с аллергическим ринитом и эозинофильным фенотипом хронического полипозного риносинусита // Российский медицинский журнал. 2023. Т. 29, № 4. С. 277–290. [Korkmazov M.Yu., Lengina M.A., Korkmazov A.M., Kravchenko A.Yu. Effect of post-COVID syndrome on the quality of life of patients with allergic rhinitis and eosinophilic phenotype of chronic polyposis rhinosinusitis. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 2023, vol. 29, no. 4, pp. 277–290. (In Russ.)] doi: 10.17816/medjrf47207
7. Любимова Е.В., Савлевич Е.Л., Зурочка А.В., Митрофанова Е.С., Курбачева О.М. Заболеваемость COVID-19 у пациентов с разной степенью тяжести полипозного риносинусита // Медицинский Совет. 2024. Т. 9. С. 168–176. [Lyubimova E.V., Savlevich E.L., Zurochka A.V., Mitrofanova E.S., Kurbacheva O.M. Incidence of coronavirus disease (COVID-19) in patients with different degrees of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2024, vol. 9, pp. 168–176. (In Russ.)] doi: 10.21518/ms2024-094
8. Савлевич Е.Л., Гаганов Л.Е., Герасимов А.Н., Курбачева О.М., Егоров В.И., Зурочка А.В. Анализ клинического течения полипозного риносинусита и патоморфологического состава ткани носовых полипов у пациентов, проживающих в различных регионах Российской Федерации // Голова и шея. Российский журнал. 2021. Т. 9, № 3. С. 15–24. [Savlevich E.L., Gaganov L.E., Gerasimov A.N., Kurbacheva O.M., Egorov V.I., Zurochka A.V. Analysis of clinical course of chronic rhinosinusitis with nasal polyp (CRSWNP) and pathomorphological composition of nasal polyp tissue in patients living in different regions of the Russian Federation. *Golova i sheya. Rossiiskii zhurnal = Head and Neck. Russian Journal*, 2021, vol. 9, no. 3, pp. 15–24. (In Russ.)] doi: 10.25792/HN.2021.9.3.15–24
9. Савлевич Е.Л., Дынева М.Е., Гаганов Л.Е., Егоров В.И., Герасимов А.Н., Курбачева О.М. Лечебно-диагностический алгоритм при разных фенотипах полипозного риносинусита // Российский аллергологический журнал. 2019. Т. 16, № 2. С. 50–60. [Savlevich E.L., Dyneva M.E., Gaganov L.E., Egorov V.I., Gerasimov A.N., Kurbacheva O.M. Diagnostic and treatment algorithm for different phenotypes of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Allergy*, 2019, vol. 16, no. 2, pp. 50–60. (In Russ.)] doi: 10.36691/RJA1198
10. Савлевич Е.Л., Зурочка А.В., Курбачева О.М., Егоров В.И., Шиловский И.П., Митрофанова Е.С., Любимова Е.В. Плейоморфизм цитокинового профиля в ткани полипов в зависимости от фенотипа полипозного риносинусита // Вестник оториноларингологии. 2023. Т. 88, № 1. С. 50–56. [Savlevich E.L., Zurochka A.V., Kurbacheva O.M., Egorov V.I., Shilovskiy I.P., Mitrofanova E.S., Lyubimova E.V. Pleiomorphism of the cytokine profile in nasal polyp tissue depending on the phenotype of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2023, vol. 88, no. 1, pp. 50–56. (In Russ.)] doi: 10.17116/otorino20228801150
11. Савлевич Е.Л., Зурочка А.В., Хайдуков С.В. Характер изменения клеточной составляющей иммунной системы у больных полипозным риносинуситом в зависимости от эффективности проводимой терапии // Медицинская иммунология. 2019. Т. 21, № 4. С. 715–724. [Savlevich E.L., Zurochka A.V., Khaidukov S.V. Characteristics of cellular compartment changes of immune system in the patients with chronic polyposis rhinosinusitis depend on efficiency of drug therapy. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, vol. 21, no. 4, pp. 715–724. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-715-724
12. Савлевич Е.Л., Козлов В.С., Курбачева О.М. Современные тенденции диагностического поиска и терапии полипозного риносинусита // Российская ринология. 2018. Т. 26, № 2. С. 41–47. [Savlevich E.L., Kozlov V.S., Kurbacheva O.M. The modern trends in the diagnostic search for and the treatment of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Rossiyskaya rinologiya = Russian Rhinology*, 2018, vol. 26, no. 2, pp. 41–47. (In Russ.)] doi: 10.17116/rosrino201826241
13. Савлевич Е.Л., Курбачева О.М., Зурочка А.В., Митрофанова Е.С., Смолкин Ю.С., Любимова Е.В. Роль блокаторов лейкотриеновых рецепторов в терапии аллергического ринита в сочетании с полипозным риносинуситом // Медицинский Совет. 2022. Т. 16, № 8. С. 111–116. [Savlevich E.L., Kurbacheva O.M., Zurochka A.V., Mitrofanova E.S., Smolkin Yu.S., Lyubimova E.V. The role of leukotriene receptor blockers in the treatment of allergic rhinitis in combination with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2022, vol. 16, no. 8, pp. 111–116. (In Russ.)] doi: 10.21518/2079-701X-2022-16-8-111-116
14. Сафронова Э.А., Рябова Л.В., Зурочка А.В. Особенности иммунного статуса больных с острым коронарным синдромом, перенесших COVID-19, в зависимости от числа цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8⁺) // Медицинская иммунология. 2023. Т. 25, № 44. С. 785–790. [Safronova E.A., Ryabova L.V., Zurochka A.V. Features of the immune status of patients with acute coronary syndrome who underwent COVID-19, depending on the number of cytotoxic T lymphocytes (CD8⁺). *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, vol. 25, no. 4, pp. 785–790. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-FOT-2834
15. Akhlaghi A., Darabi A., Mahmoodi M., Movahed A., Kaboodkhani R., Mohammadi Z., Goreh A., Farrokhi S. The frequency and clinical assessment of COVID-19 in patients with chronic rhinosinusitis. *Ear Nose Throat J.*, 2021, vol. 20: 1455613211038070. doi: 10.1177/01455613211038070
16. Brindisi G., De Vittori V., De Castro G., Duse M., Zicari A.M. Pills to think about in allergic rhinitis children during COVID-19 era. *Acta Paediatr.*, 2020, vol. 109, no. 10, pp. 2149–2150. doi: 10.1111/apa.15462
17. Calmes D., Graff S., Maes N., Frix A.N., Thys M., Bonhomme O., Berg J., Debruche M., Gester F., Henket M., Paulus V., Duysinx B., Heinen V., Dang D.N., Paulus A., Quaedvlieg V., Vaillant F., Van Cauwenberge H., Malaise M., Gilbert A., Ghuysen A., Gillet P., Moutschen M., Misset B., Sibille A., Guiot J., Corhay J.L., Louis R., Schleich F. Asthma and COPD are not risk factors for ICU stay and death in case of SARS-CoV-2 infection. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2021, vol. 9, no. 1, pp. 160–169. doi: 10.1016/j.jaip.2020.09.044
18. Camiolo M., Gauthier M., Kaminski N., Ray A., Wenzel S.E. Expression of SARS-CoV-2 receptor ACE2 and coincident host response signature varies by asthma inflammatory phenotype. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2020, vol. 146, no. 2, pp. 315–324.e7. doi: 10.1016/j.jaci.2020.05.051
19. Donlan A.N., Sutherland T.E., Marie C., Preissner S., Bradley B.T., Carpenter R.M., Sturek J.M., Ma J.Z., Moreau G.B., Donowitz J.R., Buck G.A., Serrano M.G., Burgess S.L., Abhyankar M.M., Mura C., Bourne P.E., Preissner R., Young M.K.,

- Lyons G.R., Loomba J.J., Ratcliffe S.J., Poulter M.D., Mathers A.J., Day A.J., Mann B.J., Allen J.E., Petri W.A. Jr. IL-13 is a driver of COVID-19 severity. *JCI Insight*, 2021, vol. 6, no. 15: e150107. doi: 10.1172/jci.insight.150107
20. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N.H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pöhlmann S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 2020, vol. 181, no. 2, pp. 271–280.e8. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052
 21. Huynh T., Wang H., Luan B. In silico exploration of the molecular mechanism of clinically oriented drugs for possibly inhibiting SARS-CoV-2's main protease. *J. Phys. Chem. Lett.*, 2020, vol. 11, no. 11, pp. 4413–4420. doi: 10.1021/acs.jpclett.0c00994
 22. Jackson D.J., Busse W.W., Bacharier L.B., Kattan M., O'Connor G.T., Wood R.A., Visness C.M., Durham S.R., Larson D., Esnault S., Ober C., Gergen P.J., Becker P., Togias A., Gern J.E., Altman M.C. Association of respiratory allergy, asthma, and expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2020, vol. 146, no. 1, pp. 203–206.e3. doi: 10.1016/j.jaci.2020.04.009
 23. Jones M.E., Kohn A.H., Pourali S.P., Rajkumar J.R., Gutierrez Y., Yim R.M., Armstrong A.W. The use of biologics during the COVID-19 pandemic. *Dermatol. Clin.*, 2021, vol. 39, no. 4, pp. 545–553. doi: 10.1016/j.det.2021.05.010
 24. Klimek L., Jutel M., Bousquet J., Agache I., Akdis C.A., Hox V., Gevaert P., Tomazic P.V., Rondon C., Cingi C., Toppila-Salmi S., Karavelia A., Bozkurt B., Förster-Ruhrmann U., Becker S., Chaker A.M., Wollenberg B., Mösges R., Huppertz T., Hagemann J., Bachert C., Fokkens W. Management of patients with chronic rhinosinusitis during the COVID-19 pandemic—an EAACI position paper. *Allergy*, 2021, vol. 76, no. 3, pp. 677–688. doi: 10.1111/all.14629
 25. Krajewska J., Krajewski W., Zub K., Zatoński T. COVID-19 in otolaryngologist practice: a review of current knowledge. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 2020, vol. 277, no. 7, pp. 1885–1897. doi: 10.1007/s00405-020-05968-y
 26. Lee S.W., Kim S.Y., Moon S.Y., Yang J.M., Ha E.K., Jee H.M., Shin J.I., Cho S.H., Yon D.K., Suh D.I. Estimating COVID-19 infection and severity risks in patients with chronic rhinosinusitis: a Korean nationwide cohort study. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2021, vol. 9, no. 6, pp. 2262–2271.e2. doi: 10.1016/j.jaip.2021.03.044
 27. Miller L.E., Bhattacharyya N. Risk of COVID-19 infection among chronic rhinosinusitis patients receiving oral corticosteroids. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2022, vol. 166, no. 1, pp. 183–185. doi: 10.1177/01945998211006931
 28. Rial M.J., Álvarez-Puebla M.J., Arismendi E., Caballero M.L., Cañas J.A., Cruz M.J., González-Barcala F.J., Luna J.A., Martínez-Rivera C., Mullol J., Muñoz X., Olaguibel J.M., Picado C., Plaza V., Quirce S., Romero-Mesones C., Salgado F.J., Sastre B., Soto-Retes L., Valero A., Valverde M., Sastre J., Pozo V.D. Clinical and inflammatory characteristics of patients with asthma in the Spanish MEGA project cohort. *Clin. Transl. Allergy*, 2021, vol. 11, no. 1: e12001. doi: 10.1002/ct2.12001
 29. Saheb Sharif-Askari F., Saheb Sharif-Askari N., Goel S., Fakhri S., Al-Muhsen S., Hamid Q., Halwani R. Are patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps at a decreased risk of COVID-19 infection? *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2020, vol. 10, no. 10, pp. 1182–1185. doi: 10.1002/alr.22672
 30. Sbeih F., Gutierrez J., Saied G., Chaaban M.R. Chronic rhinosinusitis is associated with increased risk of COVID-19 hospitalization. *Am. J. Otolaryngol.*, 2022, vol. 43, no. 4: 103469. doi: 10.1016/j.amjoto.2022.103469
 31. Takabayashi T., Yoshida K., Imoto Y., Schleimer R.P., Fujieda S. Regulation of the expression of SARS-CoV-2 receptor angiotensin-converting enzyme 2 in nasal mucosa. *Am. J. Rhinol. Allergy*, 2022, vol. 36, no. 1, pp. 115–122. doi: 10.1177/19458924211027798
 32. Thomas B.J., Porritt R.A., Hertzog P.J., Bardin P.G., Tate M.D. Glucocorticosteroids enhance replication of respiratory viruses: effect of adjuvant interferon. *Sci. Rep.*, 2014, vol. 24, no. 4: 7176. doi: 10.1038/srep07176
 33. Wang M., Bu X., Fang G., Luan G., Huang Y., Akdis C.A., Wang C., Zhang L. Distinct expression of SARS-CoV-2 receptor ACE2 correlates with endotypes of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Allergy*, 2021, vol. 76, no. 3, pp. 789–803. doi: 10.1111/all.14665
 34. Wang H., Song J., Pan L., Yao Y., Deng Y.K., Wang Z.C., Liao B., Ma J., He C., Zeng M., Liu Z. The characterization of chronic rhinosinusitis in hospitalized patients with COVID-19. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2020, vol. 8, no. 10, pp. 3597–3599.e2. doi: 10.1016/j.jaip.2020.09.013
 35. Wang H., Song J., Yao Y., Deng Y.K., Wang Z.C., Liao B., Ma J., He C., Pan L., Liu Y., Xie J.G., Zeng M., Liu Z. Angiotensin-converting enzyme II expression and its implication in the association between COVID-19 and allergic rhinitis. *Allergy*, 2021, no. 76, pp. 906–910. doi: 10.1111/all.14569
 36. Wang M., Wang C., Zhang L. Inflammatory endotypes of CRSwNP and responses to COVID-19. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2021, vol. 21, no. 1, pp. 8–15. doi: 10.1097/ACI.0000000000000700
 37. Williamson E.J., Walker A.J., Bhaskaran K., Bacon S., Bates C., Morton C.E., Curtis H.J., Mehrkar A., Evans D., Inglesby P., Cockburn J., McDonald H.I., MacKenna B., Tomlinson L., Douglas I.J., Rentsch C.T., Mathur R., Wong A.Y.S., Grieve R., Harrison D., Forbes H., Schultze A., Croker R., Parry J., Hester F., Harper S., Perera R., Evans S.J.W., Smeeth L., Goldacre B. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature*, 2020, vol. 584, no. 7821, pp. 430–436. doi: 10.1038/s41586-020-2521-4
 38. Workman A.D., Bhattacharyya N. Do patients with chronic rhinosinusitis exhibit elevated rates of COVID-19 infection? *Laryngoscope*, 2022, vol. 132, no. 2, pp. 257–258. doi: 10.1002/lary.29961
 39. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) situation report – 48. URL: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200308-sitrep-48-covid-19.pdf?sfvrsn=16f7ccef_4\(03.09.2020\)](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200308-sitrep-48-covid-19.pdf?sfvrsn=16f7ccef_4(03.09.2020))
 40. Xu X., Reitsma S., Wang Y., Fokkens W.J. Highlights in the advances of chronic rhinosinusitis. *Allergy*, 2021, vol. 76, no. 11, pp. 3349–3358. doi: 10.1111/all.14892
 41. Zhang Z., Peng H., Lai J., Jiang L., Wang L., Jin S., Fan K., Zhang Z., Zhao C., Deng D., Zhao P., Gao Z., Yu S. Differential susceptibility to SARS-CoV-2 in the normal nasal mucosa and in chronic sinusitis. *Eur. J. Immunol.*, 2022, vol. 52, no. 8, pp. 1308–1320. doi: 10.1002/eji.202249805
 42. Ziegler C.G.K., Allon S.J., Nyquist S.K., Mbano I.M., Miao V.N., Tzouanas C.N., Cao Y., Yousif A.S., Bals J., Hauser B.M., Feldman J., Muus C., Wadsworth M.H. 2nd, Kazer S.W., Hughes T.K., Doran B., Gatter G.J., Vukovic M., Taliaferro F., Mead B.E., Guo Z., Wang J.P., Gras D., Plaisant M., Ansari M., Angelidis I., Adler H., Sucre J.M.S., Taylor C.J., Lin B.,

- Waghray A., Mitsialis V., Dwyer D.F., Buchheit K.M., Boyce J.A., Barrett N.A., Laidlaw T.M., Carroll S.L., Colonna L., Tkachev V., Peterson C.W., Yu A., Zheng H.B., Gideon H.P., Winchell C.G., Lin P.L., Bingle C.D., Snapper S.B., Kropski J.A., Theis F.J., Schiller H.B., Zaragosi L.E., Barbry P., Leslie A., Kiem H.P., Flynn J.L., Fortune S.M., Berger B., Finberg R.W., Kean L.S., Garber M., Schmidt A.G., Lingwood D., Shalek A.K., Ordovas-Montanes J., SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell*, 2020, vol. 181, no. 5, pp. 1016–1035.e19. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.035
43. Zurochka A.V., Dobrinina M.A., Zurochka V.A., Hu D., Solovyev A., Ryabova L.V., Kritsky I.S., Ibragimov R.V., Sarapultsev A.P. Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies in symptomatic individuals is higher than in persons who are at increased risk exposure: the results of the single-center, prospective, cross-sectional study. *Vaccines*, 2021, vol. 9, no. 6: 627. doi: 10.3390/vaccines9060627

Авторы:

Любимова Е.В., врач-оториноларинголог ООО «ЛОР клиника», г. Екатеринбург, Россия;

Савлевич Е.Л., д.м.н., доцент, врач-оториноларинголог ФГБУ Клиническая больница Управления делами Президента РФ, Москва, Россия;

Зурочка А.В., д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; зав. лабораторией иммунобиотехнологии Научно-образовательного Российско-Китайского Центра системной патологии Южно-Уральского государственного университета (Научного исследовательского университета), г. Челябинск, Россия;

Митрофанова Е.С., аспирант кафедры клинической иммунологии и аллергологии Академии постдипломного образования ФГБУ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА, Москва, Россия.

Authors:

Lyubimova E.V., Otorhinolaryngologist, LLC “LOR Clinic”, Yekaterinburg, Russian Federation;

Savlevich E.L., DSc (Medicine), Associate Professor, Otorhinolaryngologist, Clinical Hospital of Department of Presidential Affairs, Moscow, Russian Federation;

Zurochka A.V., DSc (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Leading Researcher, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation; Head of the Laboratory of Immunobiotechnology, Russian-Chinese Centre for Systemic Pathology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation;

Mitrofanova E.S., PhD Student, Academy of Postgraduate Education of the “Federal Scientific and Clinical Center of Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies” of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 30.09.2023
Отправлена на доработку 16.05.2024
Принята к печати 15.11.2024

Received 30.09.2023
Revision received 16.05.2024
Accepted 15.11.2024

HETEROGENEITY OF VIRULENCE FACTORS AMONG *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* CLINICAL ISOLATES FROM PATIENTS WITH CHRONIC GENERALIZED PERIODONTITIS

I.V. Koroleva^{a,b}, E.S. Mikhailova^a, K.A. Privalova^c, L.A. Ermolaeva^a, S.A. Tumanova^a, A.N. Suvorov^{a,b}

^a St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

^b Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

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

Abstract. The development of chronic generalized periodontitis occurs due to a combination of a several causes, among which the leading role is assigned to periodontal pathogens, which include *P. gingivalis*. Among *P. gingivalis* virulence factors, the polysaccharide capsule, fimbria proteins, cysteine proteases, and hemagglutinins are of special importance. The study was aimed to investigate the prevalence of specific virulence genes and identify a virulent genotype among *P. gingivalis* isolates found in patients with severe chronic generalized periodontitis (CGP). 41 patients (27 women and 14 men, average age 43.9±1.5 years) were examined, of which main and control group consisted of 22 patients with severe CGP and 19 patients without inflammatory periodontal diseases, respectively. The PCR data allow to consider type II fimbria (FimA II), arginine-dependent type A protease (RghA) and lysine-dependent protease (Kgh) as specific markers for the detection of more virulent *P. gingivalis* strains. It was found that in St. Petersburg, the following *P. gingivalis* genotypes predominate among patients with severe CGP: *fimA II:kg:rghA*, *fimA II:kgh* and *fimA II:rghA*. In addition, it has been demonstrated that virulent genotypes are detected to a small extent in *P. gingivalis* isolates from healthy control group patients. The identification of *P. gingivalis* strains with a more prominent pathogenic potential and the detection of their virulent genotypes is of great practical importance, in the future allowing to develop advanced effective methods for disease prevention to be used in a personalized medicine strategy. The results obtained are also of high importance due to the recorded variability in the circulation of *P. gingivalis* strain genotypes in various worldwide regions.

Key words: chronic generalized periodontitis, heterogeneity, virulent genotype, *P. gingivalis*, fimbriae, cysteine proteases.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ СРЕДИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ

Королева И.В.^{1,2}, Михайлова Е.С.¹, Привалова К.А.³, Ермолаева Л.А.¹, Туманова С.А.¹, Суворов А.Н.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Развитие хронического генерализованного пародонтита обусловлено сочетанием целого ряда причин, среди которых ведущая роль отводится пародонтопатогенам, к которым относится *P. gingivalis*. Среди

Адрес для переписки:

Михайлова Екатерина Станиславовна
199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9,
Санкт-Петербургский государственный университет.
Тел.: 8 (812) 326-03-26. E-mail: e.mikhailova@spbu.ru

Contacts:

Ekaterina S. Mikhailova
199034, Russian Federation, St. Petersburg, Universitetskaya emb., 7/9,
St. Petersburg State University.
Phone: +7 (812) 326-03-26. E-mail: e.mikhailova@spbu.ru

Для цитирования:

Королева И.В., Михайлова Е.С., Привалова К.А., Ермолаева Л.А.,
Туманова С.А., Суворов А.Н. Гетерогенность факторов вирулентности
среди клинических изолятов *Porphyromonas gingivalis*, выделенных
от пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом //
Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1079–1086.
doi: 10.15789/2220-7619-HOV-17783

Citation:

Koroleva I.V., Mikhailova E.S., Privalova K.A., Ermolaeva L.A., Tumanova S.A.,
Suvorov A.N. Heterogeneity of virulence factors among *Porphyromonas*
gingivalis clinical isolates from patients with chronic generalized
periodontitis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya
i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1079–1086. doi: 10.15789/2220-7619-
HOV-17783

© Koroleva I.V. et al., 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-HOV-17783>

факторов вирулентности *P. gingivalis* особенно выделяют полисахаридную капсулу, белки фимбрий, цистеиновые протеазы, гемагглютинины. Цель исследования — изучение распространенности специфических генов вирулентности и определение вирулентного генотипа среди изолятов *P. gingivalis*, выявляемых у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени (ХГП ТС). Было проведено обследование 41 пациента (27 женщин и 14 мужчин, средний возраст $43,9 \pm 1,5$ лет), из которых основную группу составили 22 пациента с ХГП ТС и контрольную группу составили 19 пациентов без воспалительных заболеваний пародонта. Результаты, полученные с использованием ПЦР, позволяют рассматривать фимбрии II типа (FimA II), аргинин-зависимую протеазу A типа (RghA) и лизин-зависимую протеазу (Kgh) в качестве специфических маркеров для обнаружения более патогенных штаммов *P. gingivalis*. Установлено, что в Санкт-Петербурге среди пациентов с ХГП ТС преобладают следующие генотипы *P. gingivalis*: *fimA II:kgh:rghA*, *fimA II:kgh* и *fimA II:rghA*. Кроме того, было продемонстрировано, что вирулентные генотипы выявляются в незначительной степени в изолятах *P. gingivalis* от здоровых пациентов контрольной группы. Идентификация штаммов *P. gingivalis* с более выраженным патогенным потенциалом и обнаружение их вирулентных генотипов имеет важное практическое значение, позволяя в будущем разработать современные эффективные методы профилактики заболевания и использовать их в стратегии персонализированной медицины. Полученные результаты также представляют высокую значимость в связи зарегистрированной вариабельностью циркуляции генотипов штаммов *P. gingivalis* в различных регионах мира.

Ключевые слова: хронический генерализованный пародонтит, гетерогенность, вирулентный генотип, *P. gingivalis*, фимбрии, цистеиновые протеазы.

Introduction

Damaging effect of dental plaque plays a leading role in the development of inflammatory periodontal diseases. The today's science views dental plaque as a biofilm consisting of a structured bacterial community and their metabolic products [1, 17]. During the formation of dental plaque, the composition of microbiota takes a trend to change from the dominance of aerobic and facultative anaerobic forms to obligate anaerobic gram-negative rods and spiral-shaped bacteria [2, 15].

According to the “keystone pathogen hypothesis” theory *P. gingivalis* is considered to be a key periodontal pathogen [9, 10]. Well described the ability of *P. gingivalis* to have an impact on the innate immune system of the host organism resulting in dysbiotic changes in the composition of microbiota and, therefore, in an inflammatory response of periodontal tissues [11, 20]. Thus, *P. gingivalis* is rightfully considered a “keystone pathogen” agent and, even at low concentrations, it is capable of causing chronic periodontitis [9, 10, 12, 21]. Since *P. gingivalis* belongs to obligate anaerobes, the main habitat of this periodontal pathogen is the periodontal pocket. *P. gingivalis* is a secondary plaque colonizer and often forms colonies with *S. gordonii* and *P. intermedia* [12]. In addition, as Socransky “ecological theory” states, *P. gingivalis* forms a complex with *T. denticola* and *T. forsythia* [8]. This combination of microorganisms is detected in the most severe stages of chronic periodontitis. This “red complex” aggressively affects bone tissue and gum mucosa, forming deep periodontal pockets and causing severe destruction of jaw bone tissue [24, 28].

In recent years, it has become obvious that in the case of inflammatory periodontal diseases, there are factors that enhance some mechanisms of dis-

ease development making its course more severe. Differences in the course and disease development rate are due to the diversity of the composition and degree of periodontopathogen strains virulence [5, 23]. Scientists' views about the influence of genetic diversity of *P. gingivalis* strains on the development and course of inflammatory periodontal diseases are contradictory. It is believed that *P. gingivalis* strains differ in the degree of virulence in patients with different periodontitis currents, affecting the clinical course of the disease. Experimental and clinical studies have revealed differences in the pathogenic potential of *P. gingivalis* strains, dividing them into “invasive” and “non-invasive” strains [7, 21, 22]. On the other hand, there is an idea that the course of periodontitis is determined not by the diversity of strains of periodontal pathogens, but by the individual characteristics of the host organism reactivity [7]. Moreover, a number of studies have shown the availability of identical strains of *P. gingivalis* in patients with intact periodontium and with inflammatory periodontal diseases [26].

P. gingivalis is known to express many virulence factors: fimbriae, lipopolysaccharides, arginine- and lysine-dependent proteases, hemagglutinins and capsular polysaccharide, which genes are very diverse [3, 16, 27]. Fimbriae of *P. gingivalis* are classified into six genotypes — I, Ib, II, III, IV, V, that was demonstrated by a variation in the nucleotide sequence of the *fimA* gene encoding FimA (fimbryonic subunits) [6]. *P. gingivalis* with type I fimbriae has been shown to be associated with patients without inflammatory periodontal diseases [4]. On the other hand, there is an evidence that fimbriae of *P. gingivalis* with genotype II have greater adhesive ability and, therefore, greater virulence compared to other genotypes [6]. Pathogenic heterogeneity of *P. gingivalis* strains with type II fimbriae has been demon-

strated, that determines the proteolytic and invasive activity of this periodontopathogen [14]. At the same time, it is believed that there are no significant differences between *P. gingivalis* strains with different genotypes of fimbriae regarding virulence [26].

The issue of genetic heterogeneity of *P. gingivalis* and its virulence factors is being actively studied, and the scientific views about the role of those factors in the formation of a virulent genotype are contradictory. Therefore, the further need to examine the genetic heterogeneity of *P. gingivalis* in patients with inflammatory periodontal diseases makes this research relevant. To study genetic heterogeneity of fimbriae and cysteine proteases of *P. gingivalis* strains in patients with chronic generalized periodontitis, as well as deriving characteristics of the virulent genotype of *P. gingivalis* is very perspective. In addition, it is of interest to examine the prevalence of the virulent genotype among *P. gingivalis* strains isolated from patients without inflammatory periodontal diseases.

The purpose of the research: to study the prevalence of specific virulence genes and identify the virulent genotype among *P. gingivalis* strains detected in patients with severe chronic generalized periodontitis.

Materials and methods

A research was conducted on 41 patients (27 women and 14 men) aged 36 to 50 years (average age was 43.9 ± 1.5 years). The patients were divided into two groups. The first group included 22 patients with severe chronic generalized periodontitis (CGPS). The control group consisted of 19 patients without inflammatory periodontal diseases (IPD). To form a control group, 69 patients without IPD were preliminarily examined and those patients in whom *P. gingivalis* was identified were selected.

In the course of research, a clinical examination of patients was performed, including collection of anamnesis, complaints, assessment of dental status, index assessment of the periodontal tissue condition (OHI-S index, Green, Vermillion, 1964; Silness-Loe index, Silness, Loe, 1964; CPITN index, WHO, 1978, Ainamo et al., 1982; PMA index, Parma S., 1960; BOP index, Ainamo, Bau, 1975), as

well as microbiological examination of material from the periodontal sulcus or periodontal pockets of the examined patients using PCR diagnostics. X-ray examination included assessment of data obtained from GALILEOS cone-beam computed tomography (Sirona, Germany).

Material was collected from periodontal pockets in patients with CGPS (main group) and from the periodontal sulcus in healthy patients (control group) using sterile paper absorbents Absorbent Paper Points from Euronda, size No. 25. Paper absorbents were placed in the gingival sulcus or periodontal pockets for 7–10 seconds, after which they were immediately transferred into sterile sealed Eppendorf tubes and stored at -50°C . A special cooling device was used to transport the material to maintain storage conditions.

To isolate DNA, we used the Express-DNA-Bio kit in accordance with the instructions. The resulting DNA samples were stored at -20°C until polymerase chain reaction (PCR) was performed.

Primer 3 and OLIGO 4.0 computer programs was used to perform the design, analysis of oligonucleotide primers and identification of the primer melting temperature (Table 1). Primers to identify *fimA I* and *IV* genes were used from the publication of Takashi Yoshino et al. [25].

The data obtained in the course of the research were processed on a personal computer using the software system “Statistica for Windows” (v. 7.0). To visualize the results of the study, diagrams were constructed in Microsoft Excel.

Results

All patients of the main group complained of bleeding gums during brushing, tooth mobility, swelling and inflammation of the gums (Fig. 1). In 59.1% cases, patients in the main group complained of food getting between the teeth, as well as halitosis. Patients with CGPS in 72.73% cases marked the displacement of teeth resulting from a functional secondary traumatic occlusion and in 68.18% cases — itching and gum area burning caused by the inflammatory edema of periodontal tissue. 2 patients in the control group had complaints only about food

Table 1. Oligonucleotide primers

	Name	5' → 3'	T0ann.	DNA fragments size (bp)
1	Gin1	GTATATGCTCGACGAGGTGGAA	57.0	334
2	Gin2	ATTGTCCAGGGTAACTTCTTCG		
3	Fim II1	TGTTGCAGACAATAATCCTAC	51.0	250
4	Fim II2	CGATTACCAAGTAGCATTCTGA		
5	Kgp1	TCCACTTCTGACCACATCTCAA	56.0	397
6	Kgp2	AGCTTCCCGATAGTAATGAGCA		
7	RgpA1	AATCCCGGAACAACAACACTTT	56.0	331
8	RgpA2	TGAAGTTGGATGCATCGTTACC		

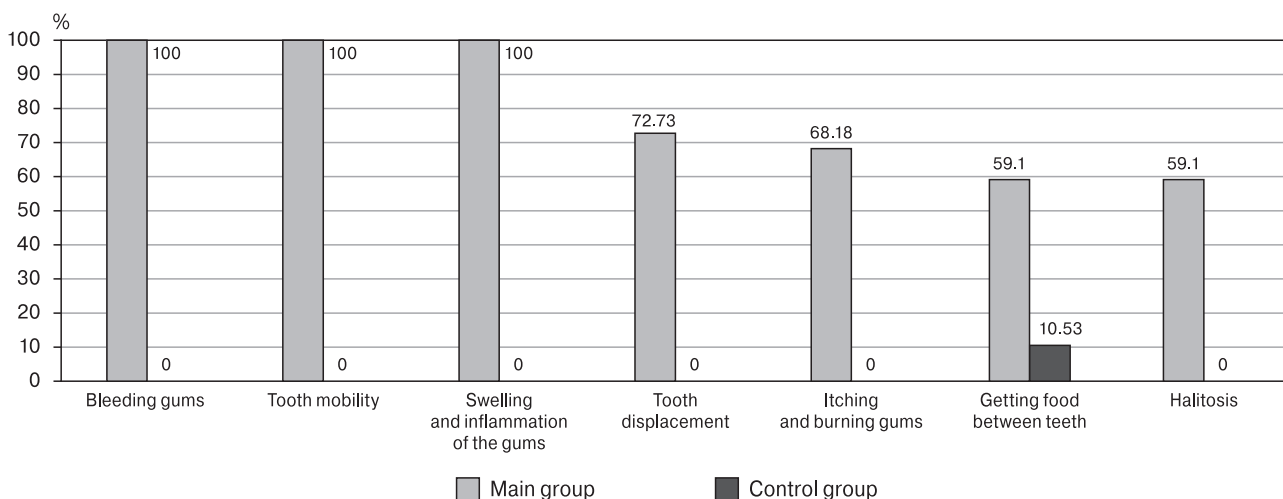


Figure 1. Complaints from patients in the main and control groups

getting between the teeth owing to lack of a contact point in the area of several tooth pairs in the maxilla and mandible.

Hyperemia of the marginal and attached gums, and exudation from periodontal pockets has been revealed in all patients of the main group. Gingival recession has been found in all patients with CGPS, the average value amounted to 1.96 ± 0.07 mm. Lesions of the furcation in the area of the molars of the maxilla and mandible were detected in 15 patients (68.2% of cases). Tooth mobility has been revealed in all patients of the main group, most often grade 1–2.

The values of the OHI-S hygiene index in patients with CGPS in the main group were 4.77 ± 0.12 , in the control group — 0.44 ± 0.04 (Fig. 2).

The obtained values of the OHI-S index indicate poor oral hygiene in patients of the main group that is typical for patients with CGPS who lack the correct skills to practice individual oral hygiene. Statistically significant differences have been found in the Silness-

Loe index between patients of the main and control groups indicating a cause-and-effect correlation between the mineralized supra- and subgingival dental plaque and inflammation in the periodontal tissues ($p < 0.001$).

The PMA index and BOP bleeding index rates in patients of the main group indicate inflammatory phenomena in periodontal tissues. A distinct inflammatory-destructive process in periodontal tissues in patients of the main group was confirmed by the rates of the periodontal index. The rates of the CPITN index in patients with CGPS of the main group reached 3.97 ± 0.23 . High rates of the CPITN index for patients in the main group indicate the need for complex treatment, including surgical treatment of periodontal diseases.

The results obtained during cone-beam computed tomography in patients of the main group correspond to the clinical picture and the diagnosis of CGPS. In all patients of the main group, destruction of the compact lamina of the alveolar bone was revealed

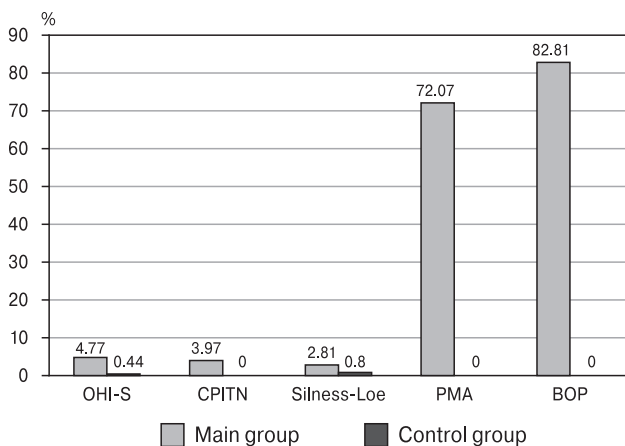


Figure 2. OHI-S, CPITN, Silness-Loe, PMA (%) и BOP (%) index rates in patients of the main and control groups

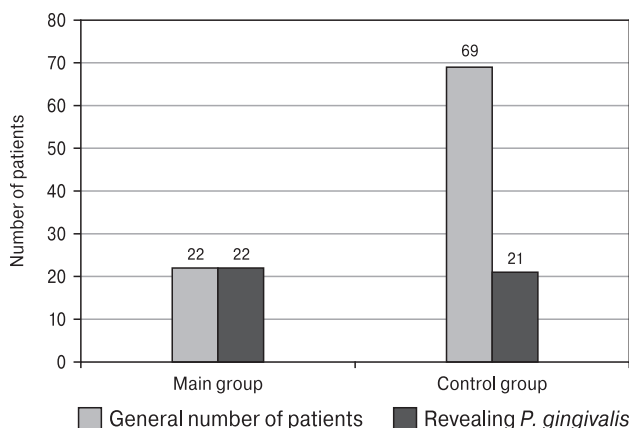


Figure 3. Frequency of *P. gingivalis* occurrence in periodontal pockets/gingival sulcus in patients of the main and control groups

along its entire length, and bone pockets were identified in the area of 15.2 ± 3.7 teeth. The amount of bone tissue destruction “more than $\frac{1}{2}$ the length of the root” was identified in all patients with CGPS.

The contents of the periodontal pockets in patients of the main group and the subgingival sulcus in patients in the control group have been examined to reveal *P. gingivalis* using PCR screening (Fig. 3).

In the main group, the periodontopathogen *P. gingivalis* has been detected in all patients (100% cases). To form a control group, 69 patients without inflammatory periodontal diseases (inflammatory periodontal diseases) were previously examined, among whom *P. gingivalis* was detected in 21 patients (30.4% of cases).

22 *P. gingivalis* isolates of the main group and 19 isolates of the control group were examined by PCR to reveal genes encoding fimbriae types I, II, and IV (Fig. 4).

The results indicate the predominance of the *fimA* II genotype (40.9% of cases) among the *P. gingivalis* isolates of the main group. The *fimA* I genotype is detected quite often as well, in 22.7% cases, while the prevalence of the *fimA* IV genotype was insignificant (9.1% of cases). Thus, among *P. gingivalis* isolates from patients with CGPS, strains carrying fimbriae of types I and II predominantly circulate. Among the 19 *P. gingivalis* isolates of the control group, *fimA* II also dominates (31.6% cases), the prevalence of which is only by 22.7% lower compared to the prevalence rate of *fimA* II in the main group. The *fimA* I genotype in *P. gingivalis* isolates of the control group is found quite rarely (5.3% of cases), and the *fimA* IV genotype is not available at all.

The gene (*kgh*), encoding a lysine-dependent protease, in *P. gingivalis* isolates of the main group is detected in 68.2% cases, while the gene (*rghA*), encoding an arginine-dependent protease type A, is detected in *P. gingivalis* isolates of all patients (100% cases) (Fig. 5).

When comparing the corresponding genes in control group *P. gingivalis* isolates, a significant reduction in the prevalence of *kgh* and *rghA* was revealed, to 26.3% and 47.4% cases, respectively.

Table 2 shows the prevalence of various genotypes of the studied virulence factors among *P. gingivalis* isolates of the main and control groups.

When considering three virulence factors, *P. gingivalis* isolates with genotype *fimA* II:*kgh*:*rghA* (27.3% cases) and *fimA* I:*kgh*:*rghA* (18.2% cases) dominate the main group. Both of those genotypes are present in almost half (45.5% cases) of *P. gingivalis* isolates of the main group that suggests a significant contribution of *P. gingivalis* with those genotypes in the development of chronic generalized periodontitis. In *P. gingivalis* isolates of the control group, genotypes *fimA* II:*kgh*:*rghA* and *fimA* I:*kgh*:*rghA* are found quite rare, in 5.3% cases. When considering different genotypes from two virulence factors

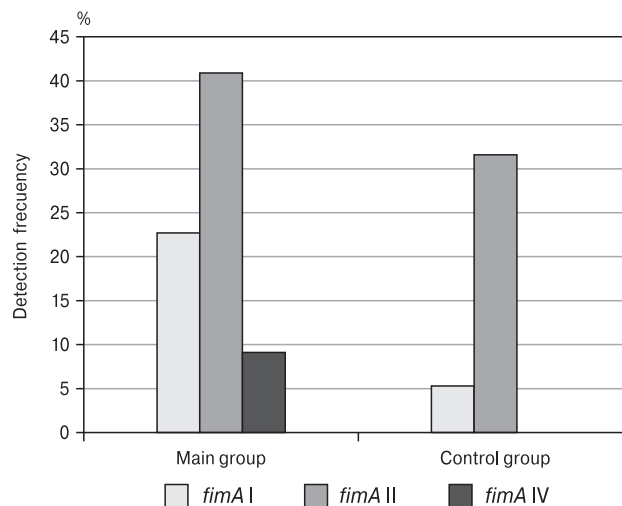


Figure 4. Prevalence of fimbriae types I, II and IV genes (*fimA* I, *fimA* II and *fimA* IV) among *P. gingivalis* isolates in patients of the main and control groups

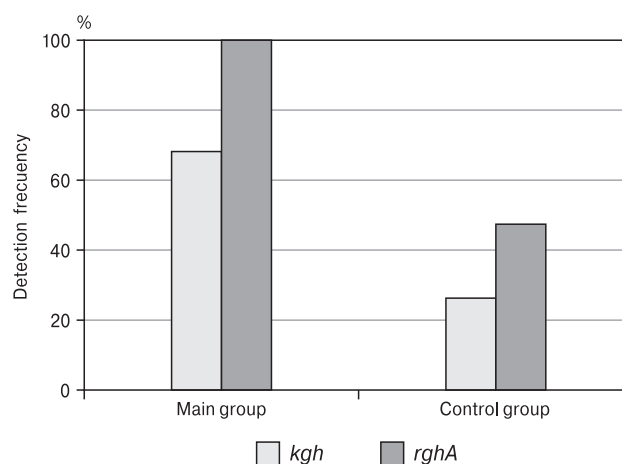


Figure 5. Prevalence of lysine-dependent protease (*kgh*) and arginine-dependent protease type A (*rghA*) genes among *P. gingivalis* isolates in patients of the main and control groups

Table 2. Distribution of fimbria types I, II and IV (*fimA* I, II, IV), lysine-dependent protease (*kgh*) and arginine-dependent protease type A (*rghA*) genotypes

Genotypes	Prevalence (%)	
	Main group	Control group
<i>fimA</i> I: <i>kgh</i> : <i>rghA</i>	18.2	5.3
<i>fimA</i> II: <i>kgh</i> : <i>rghA</i>	27.3	5.3
<i>fimA</i> IV: <i>kgh</i> : <i>rghA</i>	9.1	0
<i>fimA</i> I: <i>kgh</i>	18.2	5.3
<i>fimA</i> I: <i>rghA</i>	22.7	5.3
<i>fimA</i> II: <i>kgh</i>	27.3	5.3
<i>fimA</i> II: <i>rghA</i>	40.1	18.2
<i>fimA</i> IV: <i>kgh</i>	9.1	0
<i>fimA</i> IV: <i>rghA</i>	9.1	0

in *P. gingivalis* isolates of the control group, genotypes *fimA* II:*rghA* (40.1% cases), *fimA* II:*kgh* (27.3% cases) and *fimA* I:*rghA* (22.7% cases) predominate. In *P. gingivalis* isolates from the control group, the *fimA* II:*rghA* genotype also predominate (18.2% cases). The remaining genotypes listed above are found rare in *P. gingivalis* isolates from the control group, in 5.3% cases.

Discussion

Among the virulence factors of *P. gingivalis*, the polysaccharide capsule, fimbriae proteins, arginine- and lysine-dependent proteases, and hemagglutinins are particularly distinguished. In the work in question, the heterogeneity of genes encoding fimbriae types I, II and IV and arginine- and lysine-dependent proteases was studied in clinical isolates of *P. gingivalis* obtained from healthy patients and patients with CGPS. It has previously been demonstrated that *P. gingivalis* is isolated from healthy patients in 10–25% cases [13]. A higher percentage of *P. gingivalis* detection was reported in the dental plaque of healthy Japanese patients, up to 36.8% cases [4]. A study of samples obtained from the subgingival sulcus of 69 healthy patients in St. Petersburg demonstrates a high percentage of carriage of *P. gingivalis*, up to 30.4% cases. The prevalence of *P. gingivalis* in patients of the main group amounted to 100% cases that fully correlates with previous studies [13, 18]. Among *P. gingivalis* fimbriae, six genotypes of *fimA* have been described, of which genotypes II and IV have been characterized as the most common ones among *P. gingivalis* isolates received from patients with IPD (inflammatory periodontal disease) in Sweden and Japan [4, 25]. The remaining genotypes of fimbriae were detected quite rarely [25]. In agreement with previous studies, among the three types of arginine-dependent proteases, type A arginine-dependent protease (RghA) was found to be dominant. Among lysine-dependent Kgh proteases, both genotypes I and II occurred with approximately the same frequency [25].

When studying the prevalence of virulence factors in the main group, it has been demonstrated that genes encoding type II fimbriae (40.9% cases) and type A arginine-dependent protease (100% cases) were present in the first place by frequency of occurrence. The obtained data suggest a direct correlation between CGPS and *P. gingivalis* isolates carrying the *rghA* gene ($r = 1.0$). The lysine-dependent protease gene *kgh* is detected in 68.2% of cases. In *P. gingivalis* isolates from healthy patients, type II fimbriae and type A arginine-dependent protease were present in 31.6% and 47.4% of cases, respectively. Lysine-dependent protease Kgh is detected in 26.3% of cases. The presented results suggest that *P. gingivalis* strains producing fimbriae FimA II, as well as Kgh and RghA, have a more pronounced pathogenic po-

tential. Thus, one can consider those virulence factors as markers for detecting more pathogenic strains of *P. gingivalis*.

Comparing data on the prevalence of *P. gingivalis* virulence factors in the St. Petersburg with previously published data for Sweden, it's safe to say that type II fimbriae are most often found in *P. gingivalis* isolates from patients with IPD. However, it is worth noting that *P. gingivalis* isolates with type II fimbriae are recorded more often in Swedish patients (71% cases) compared to patients from St. Petersburg (40.9% cases). Differences in *P. gingivalis* isolates from St. Petersburg are also revealed when identifying type I and IV fimbriae. In *P. gingivalis* isolates from Swedish patients, the second most common finding was *P. gingivalis* with type IV fimbriae (16.1% cases). In the St. Petersburg, *P. gingivalis* with type IV fimbriae from patients with IPD are rarely found (9.1% cases); moreover, *P. gingivalis* isolates with type IV fimbriae from healthy patients are not recorded at all. On the other hand, in St. Petersburg, isolates of *P. gingivalis* with type I fimbriae are more often detected from patients with IPD, in 22.7% cases. The relatively frequent detection of *P. gingivalis* isolates with type I fimbriae (19.6% cases) from Brazilian patients with IPD has been previously published [19]. In comparison, type I fimbriae was rarely detected in *P. gingivalis* isolates from Swedish patients (4.8% of cases). In addition, all *P. gingivalis* isolates from St. Petersburg patients with IPD carry the gene for arginine-dependent protease type A, while in *P. gingivalis* isolates from Swedish patients with IPD the gene for the mentioned protease is found less frequently, in 75.8% cases. In summary, a study of clinical isolates of *P. gingivalis* from patients with IPD demonstrates significant regional differences in the prevalence of individual *P. gingivalis* virulence factors. The findings highlight the significance of such studies for specific regions.

When analyzing genotypic variants for the studied virulence factors of *P. gingivalis* in the main group, *fimA* II:*kgh:rghA* (27.3% cases), *fimA* II:*kgh* (27.3%) and *fimA* II:*rghA* (40.1% cases) are most common. Those results allow taking into consideration the above-mentioned gene combinations as virulent genotypes of *P. gingivalis*. It is important to mention that virulent genotypes were found in *P. gingivalis* isolates from healthy control patients (*fimA* II:*kgh:rghA* and *fimA* II:*kgh* — in 5.3% cases; *fimA* II:*rghA* — in 18.2% cases).

Identification of *P. gingivalis* strains with more distinct pathogenic potential and detection of their virulent genotypes is of great practical importance. Using obtained clinical and microbiological data, an in-depth research of the etiology of IPD, development and implementation of up-to-date efficient methods to prevent the disease are possible. In addition, the detection of virulent genotype strains among control group patients allows predicting that some healthy patients have an increased susceptibil-

ity to developing periodontitis. Keeping that knowledge in mind the dentist will be able to prevent inflammatory periodontal diseases in advance, develop individual oral hygiene for the patient and give appropriate recommendations.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the staff of the Institute of Experimental Medicine for the opportunity to perform this scientific research.

References

1. Фукс Е.И., Карева Ю.А., Гализина О.А., Таболина Е.С. Современные аспекты этиологии и патогенеза заболеваний пародонта // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2013. № 3. С. 153–159. [Fuchs E.I., Kareva Yu.A., Galizina O.A., Tabolina E.S. Modern aspects of the etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Rossiiskii mediko-biologicheskii vestnik imeni akademika I.P. Pavlova* = *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*, 2013, no. 3, pp. 15–39. (In Russ.)]
2. Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии — основной фактор возникновения и развития пародонтита // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2017. № 5. С. 101–112. [Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Ippolitov E.V. Periodontopathogenic bacteria — the main factor in the occurrence and development of periodontitis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* = *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2017, no. 5, pp. 101–112. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-2017-5-101-112
3. Ally N., Whisstock J.C., Sieprawska-Lupa M., Potempa J., Le Bonniec B.F., Travis J., Pike R.N. Characterization of the specificity of arginine-specific gingipains from *Porphyromonas gingivalis* reveals active site differences between different forms of the enzymes. *Biochemistry*, 2003, vol. 42, no. 40, pp. 11693–11700. doi: 10.1021/bi0349726
4. Amano A., Kuboniwa M., Nakagawa I., Akiyama S., Morisaki I., Hamada S. Prevalence of specific genotypes of *Porphyromonas gingivalis* fimA and periodontal health status. *J. Dent. Res.*, 2000, vol. 79, no. 9, pp. 1664–1668. doi: 10.1177/00220345000790090501
5. Bostanci N., Belibasakis G.N. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2012, vol. 333, no. 1, pp. 1–9. doi: 10.1111/j.1574-6968.2012.02579.x
6. Enersen M., Nakano K., Amano A. *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. *J. Oral. Microbiol.*, 2013, vol. 5. doi: 10.3402/jom.v5i0.20265
7. Evans R.T., Klausen B., Ramamurthy N.S., Golub L.M., Sfintescu C., Genco R.J. Periodontopathic potential of two strains of *Porphyromonas gingivalis* in gnotobiotic rats. *Arch. Oral. Biol.*, 1992, vol. 37, no. 10, pp. 813–819. doi: 10.1016/0003-9969(92)90115-0
8. Haffajee A.D., Socransky S.S., Patel M.R., Song X. Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral. Microbiol. Immunol.*, 2008, vol. 23, no. 3, pp. 196–205. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00411.x
9. Hajishengallis G., Darveau R.P., Curtis M.A. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2012, vol. 10, no. 10, pp. 717–725. doi: 10.1038/nrmicro2873
10. Hajishengallis G., Lamont R.J. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol. Oral Microbiol.*, 2012, vol. 27, no. 6, pp. 409–419. doi: 10.1111/j.2041-1014.2012.00663.x
11. Hajishengallis G., Diaz P.I. *Porphyromonas gingivalis*: Immune subversion activities and role in periodontal dysbiosis. *Curr. Oral Health. Rep.*, 2020, vol. 7, no. 1, pp. 12–21. doi: 10.1007/s40496-020-00249-3
12. How K.Y., Song K.P., Chan K.G. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7: 53. doi: 10.3389/fmicb.2016.00053
13. Igboin C.O., Griffen A.L., Leys E.J. *Porphyromonas gingivalis* strain diversity. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, vol. 47, no. 10, pp. 3073–3081. doi: 10.1128/JCM.00569-09
14. Inaba H., Nakano K., Kato T., Nomura R., Kawai S., Kuboniwa M., Ishihara K., Ooshima T., Amano A. Heterogenic virulence and related factors among clinical isolates of *Porphyromonas gingivalis* with type II fimbriae. *Oral. Microbiol. Immunol.*, 2008, vol. 23, no. 1, pp. 29–35. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00386.x
15. Kuboniwa M., Lamont R.J. Subgingival biofilm formation. *Periodontol.* 2000, 2010, vol. 52, no. 1, pp. 38–52. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00311.x
16. Laine M.L., van Winkelhoff A.J. Virulence of six capsular serotypes of *Porphyromonas gingivalis* in a mouse model. *Oral. Microbiol. Immunol.*, 1998, vol. 13, no. 5, pp. 322–332. doi: 10.1111/j.1399-302x.1998.tb00714.x
17. Marsh F.D. Dental plaque as a biofilm and a microbial community — implications for health and disease. *BMC Oral Health.*, 2006, vol. 6 (suppl. 1), p. S14. doi: 10.1186/1472-6831-6-S1-S14
18. Mikhaylova E.S., Lashchenov P.V., Koroleva I.V. Clinical and microbiological assessment of periodontal tissues in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Intern. Pharm. Research.*, 2019, vol. 11, no. 4, pp. 831–840.
19. Missailidis C.G., Umeda J.E., Ota-Tsuzuki C., Anzai D., Mayer M.P. Distribution of fimA genotypes of *Porphyromonas gingivalis* in subjects with various periodontal conditions. *Oral Microbiol. Immunol.*, 2004, vol. 19, pp. 224–229. doi: 10.1111/j.1399-302X.2004.00140.x
20. Mysak J., Podzimek S., Sommerova P., Lyuya-Mi. Y., Bartova J., Janatova T., Prochazkova J., Duskova J. *Porphyromonas gingivalis*: major periodontopathic pathogen overview. *J. Immunol. Res.*, 2014, vol. 2014: 476068. doi: 10.1155/2014/476068
21. Olsen I., Lambris J.D., Hajishengallis G. *Porphyromonas gingivalis* disturbs host-commensal homeostasis by changing complement function. *J. Oral Microbiol.*, 2017, vol. 9, no. 1: 1340085. doi: 10.1080/20002297.2017.1340085
22. Ozmeriç N., Preus N.R., Olsen I. Genetic diversity of *Porphyromonas gingivalis* and its possible importance to pathogenicity. *Acta Odontol. Scand.*, 2000, vol. 58, no. 4, pp. 83–87. doi: 10.1080/000163500429190
23. Rodrigues R.S., Silveira V.R., Rego R.O. Analysis of *Porphyromonas gingivalis* fimA genotypes in severe periodontitis patients. *Braz. Oral Res.*, 2020, vol. 34: e090. doi: 10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0090

24. 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
25. Yoshino T., Laine M.L., van Winkelhoff A.J., Dahl G. Genotype variation and capsular serotypes of *Porphyromonas gingivalis* from chronic periodontitis and periodontal abscesses. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2007, vol. 270, no. 1, pp. 75–81. doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00651.x
26. Umeda J.E., Missailidis C., Longo P.L., Anzai D., Wikström M., Mayer M.P. Adhesion and invasion to epithelial cells by fimA genotypes of *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol. Immunol.*, 2006, vol. 21, no. 6, pp. 415–419. doi: 10.1111/j.1399-302X.2006.00312.x
27. Wang P.L., Ohura K. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide signaling in gingival fibroblasts-CD14 and Toll-like receptors. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 2002, vol. 13, no. 2, pp. 132–142. doi: 10.1177/154411130201300204
28. Xu W., Zhou W., Wang H., Liang S. Roles of *Porphyromonas gingivalis* and its virulence factors in periodontitis. *Adv. Protein. Chem. Struct. Biol.*, 2020, vol. 120, pp. 45–84. doi: 10.1016/bs.apcsb.2019.12.001

Авторы:

Королева И.В., к.б.н., доцент кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий Медицинского института ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; старший научный сотрудник Отдела молекулярной микробиологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

Михайлова Е.С., д.м.н., доцент, доцент кафедры терапевтической стоматологии Медицинского института ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

Привалова К.А., ординатор кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Ермолаева Л.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапевтической стоматологии Медицинского института ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

Туманова С.А., к.м.н., доцент, доцент кафедры терапевтической стоматологии Медицинского института ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

Суворов А.Н., член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, зав. кафедрой фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий Медицинского института ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; зав. отделом молекулярной микробиологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Koroleva I.V., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Fundamental Problems of Medicine and Medical Technologies, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation; Senior Researcher, Department of Molecular Microbiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;

Mikhailova E.S., DSc (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Therapeutic Dentistry, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;

Privalova K.A., Resident of the Department of Oral and Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

Ermolaeva L.A., DSc (Medicine), Professor, Head of the Therapeutic Dentistry Department, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;

Tumanova S.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Therapeutic Dentistry, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;

Suvorov A.N., RAS Corresponding Member, DSc (Medicine), Professor, Head of the Fundamental Problems of Medicine and Medical Technologies Department, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Molecular Microbiology Department, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation.

АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ В ГРУППАХ CD4⁺ КЛЕТОК, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ЭКСПРЕССИИ CCR6, У ЛИЦ, ИНФИЦИРОВАННЫХ И НЕИНФИЦИРОВАННЫХ *HELICOBACTER PYLORI*

В.Ю. Талаев, И.Е. Заиченко, М.В. Светлова, Е.В. Воронина, О.Н. Бабайкина,
Н.В. Неумоина, К.М. Перфилова

ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика
И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

Резюме. Введение. *Helicobacter pylori* способен инфицировать слизистую оболочку желудка человека и вызывать различные патологические состояния от бессимптомной инфекции до гастрита, язвенной болезни, аденокарциномы желудка и лимфомы лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой. Предполагается, что форма заболевания зависит от вирулентности возбудителя и ответа организма хозяина, однако роль отдельных групп клеток в иммунном ответе на *H. pylori*-инфекцию до конца не установлена. Ранее было показано, что в крови пациентов, инфицированных *H. pylori*, значительно возрастает содержание зрелых CD4⁺CCR6⁺ Т-лимфоцитов, причем в этой группе лимфоцитов увеличивается доля провоспалительных Т-хелперов 1 и 17 типов. Также известно, что хемокиновый рецептор CCR6 может направлять миграцию клеток из крови в воспаленную слизистую оболочку желудка. В этой работе мы оценили *in vitro* ответ циркулирующих CD4⁺CCR6⁺ и CD4⁺CCR6⁻ Т-клеток на антигены *H. pylori* у инфицированных и неинфицированных лиц. **Материалы и методы.** Из крови обследованных выделяли моноциты и лимфоциты. Моноциты инкубировали с *H. pylori* или без него. Затем оценивали экспрессию CD14, CD80 и CD86 на моноцитах, а также использовали моноциты для стимуляции сингенных лимфоцитов. Реакцию лимфоцитов на антиген оценивали по пролиферации и экспрессии активационного маркера OX40 на CD4⁺ Т-клетках, различающихся по экспрессии CCR6. **Результаты.** В предварительных экспериментах было показано, что инкубация с *H. pylori* вызывает умеренное усиление экспрессии костимулирующих молекул CD80 и CD86 на моноцитах и небольшое увеличение способности моноцитов стимулировать пролиферацию сингенных лимфоцитов. Оценка экспрессии OX40 в модели презентации антигенов *in vitro* показала, что CD4⁺ Т-лимфоциты крови инфицированных пациентов содержат выявляемое количество клеток, реагирующих активацией на антигены *H. pylori*. У пациентов с *H. pylori*-инфекцией CD4⁺CCR6⁺ субпопуляция лимфоцитов содержит большее количество клеток, специфичных к антигенам возбудителя, по сравнению с CD4⁺CCR6⁻ субпопуляцией. У доноров группы сравнения, не имеющих *H. pylori*-инфекции, презентация антигенов возбудителя в культурах клеток крови не оказывала существенного влияния на средние показатели активации CD4⁺ Т-лимфоцитов. **Заключение.** Кровь

Адрес для переписки:

Талаев Владимир Юрьевич
603950, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71,
ФБУН НИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (831) 469-79-48.
E-mail: talaev@inbox.ru

Contacts:

Vladimir Yu. Talayev
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Malaya
Yamskaya str., 71, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod
Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology.
Phone: +7 (831) 469-79-48.
E-mail: talaev@inbox.ru

Для цитирования:

Талаев В.Ю., Заиченко И.Е., Светлова М.В., Воронина Е.В.,
Бабайкина О.Н., Неумоина Н.В., Перфилова К.М.
Антигенспецифические Т-лимфоциты в группах CD4⁺ клеток,
различающихся по экспрессии CCR6, у лиц, инфицированных
и неинфицированных *Helicobacter pylori* // Инфекция и иммунитет. 2024.
Т. 14, № 6. С. 1087–1096. doi: 10.15789/2220-7619-HPC-17641

Citation:

Talayev V.Yu., Zaichenko I.Ye., Svetlova M.V., Voronina E.V., Babaykina O.N.,
Neumoina N.V., Perfilova K.M. Expression of CCR6 on *Helicobacter*
pylori-specific circulating CD4⁺ T cells // Russian Journal of Infection and
Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1087–1096.
doi: 10.15789/2220-7619-HPC-17641

пациентов с *H. pylori*-инфекцией содержит CD4⁺ Т-клетки, реагирующие активацией на антигены *H. pylori*. CD4⁺CCR6⁺ Т-клетки крови пациентов с *H. pylori*-инфекцией, содержат большее количество антигенспецифических лимфоцитов по сравнению с CD4⁺CCR6⁻ Т-клетками.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, гастрит, Т-клетки, иммунный ответ, активация, хемокиновые рецепторы.

EXPRESSION OF CCR6 ON *HELICOBACTER PYLORI*-SPECIFIC CIRCULATING CD4⁺ T CELLS

Talayev V.Yu., Zaichenko I.Ye., Svetlova M.V., Voronina E.V., Babaykina O.N., Neumoina N.V., Perfilova K.M.

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. *Introduction.* *Helicobacter pylori* can infect human gastric mucosa and cause various pathological conditions. In the blood of *H. pylori*-infected patients, the level of mature CD4⁺CCR6⁺ T-lymphocytes, especially pro-inflammatory CCR6⁺ T-helper types 1 and 17, significantly increases. Chemokine receptor CCR6 can direct cell migration from the blood into the inflamed gastric mucosa. In this work, we assessed the in vitro response of circulating CD4⁺CCR6⁺ and CD4⁺CCR6⁻ T cells against *H. pylori* antigens in infected and intact individuals. *Materials and methods.* Monocytes and lymphocytes were isolated from blood samples. Monocytes were incubated with or without *H. pylori*. Monocyte expression of CD14, CD80 and CD86 was assessed, and monocytes were also used to stimulate syngeneic lymphocytes. Antigen-specific lymphocyte response was assessed by proliferation and expression of the activation marker OX40 on CD4⁺CCR6⁺ and CD4⁺CCR6⁻ T cells. *Results.* Preliminary experiments have shown that incubation of monocytes with *H. pylori* causes a modestly increased expression of the costimulatory molecules CD80 and CD86 on monocytes and a slightly higher level of monocyte potential to stimulate syngeneic lymphocyte proliferation. Evaluation of OX40 expression in an *in vitro* antigen presentation model showed that blood CD4⁺ T lymphocytes from infected patients contain cells that are activated by *H. pylori* antigens. In patients with *H. pylori* infection, the CD4⁺CCR6⁺ vs CD4⁺CCR6⁻ lymphocyte subset contains a larger number of *H. pylori* antigen-specific cells. In the comparison group without *H. pylori* infection, the presentation of *H. pylori* antigens in blood cell cultures did not have a significant effect on the average rates of CD4⁺ T-lymphocyte activation. *Conclusion.* The blood of patients with *H. pylori* infection contains CD4⁺ T cells that are activated in the presence of *H. pylori* antigens. Blood CD4⁺CCR6⁺ vs CD4⁺CCR6⁻ T cells from patients with *H. pylori* infection contain a greater number of antigen-specific lymphocytes.

Key words: *Helicobacter pylori*, gastritis, T cells, immune response, activation, chemokine receptors.

Введение

Инфицирование слизистой желудка человека хеликобактером широко распространено во всем мире. Проявления этой инфекции разнообразны, и она может протекать бессимптомно или приводить к развитию различных, в том числе, опасных для жизни, заболеваний. *H. pylori* является одним из наиболее важных этиологических факторов развития гастрита типа В, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, аденокарциномы желудка и лимфомы лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой [4, 17]. Считается, что развитие различных форм *H. pylori*-инфекции зависит как от вирулентности микроорганизма, так и от индивидуальных особенностей макроорганизма, в частности, характера иммунного ответа. Иммунный ответ на эту инфекцию развивается быстро [10, 15, 18, 20], но может оказаться недостаточно эффективным для устранения возбудителя. Одной из возможных причин недостаточной эффективности ответа является способность *H. pylori* сдерживать развитие иммунных реакций и уклоняться от действия защитных факторов хозяина [15, 16]. Этот микроорганизм экспрессирует модифициро-

ванный, менее иммуногенный липополисахарид, нарушает миграцию и бактерицидное действие фагоцитов, его токсины и ферменты модулируют созревание и функцию дендритных клеток, угнетают активацию Т-клеток и клональную экспансию антигенспецифических Т-лимфоцитов [15, 16]. Наконец, важным механизмом уклонения от противоинфекционного иммунного ответа является индукция регуляторных Т-клеток [6, 7, 25, 26]. Показано, что индуцированные хеликобактером регуляторные Т-клетки ограничивают развитие антимикробного ответа и способствуют персистенции возбудителя, но, одновременно с этим, ослабляют воспаление в мышинной модели хеликобактерного гастрита [11, 12]. Напротив, антигенспецифические Т-хелперные клетки обладают определенным противоинфекционным действием и ограничивают распространение хеликобактера у лабораторных животных, но, в то же время, играют важнейшую роль в манифестации признаков гастрита [9, 11, 22]. У людей при *H. pylori*-ассоциированном гастрите наблюдается инфильтрация слизистой оболочки активированными Т-клетками [27], провоспалительными Т-хелперами первого типа (Th1) [8, 19] и противовоспалительными регуляторными

Т-клетками [6, 7, 25, 26]. Обогащение инфицированной слизистой этими лимфоцитами осуществляется за счет хемотаксиса из крови в слизистую под действием хемокинов, которые продуцируются эпителиоцитами желудка в ответ на воздействие микроорганизма. По-видимому, рецепторы для этих хемокинов Т-лимфоциты приобретают при вовлечении в иммунный ответ в Пейеровых бляшках тонкого кишечника, куда поступают антигены *H. pylori* с пищевыми массами из желудка. По крайней мере, в мышинной модели хеликобактериоза Пейеровы бляшки критически необходимы для развития клеточной инфильтрации и воспаления слизистой желудка [13]. Предполагается, что после созревания антигенспецифические Т-клетки покидают Пейеровы бляшки и выходят в кровоток, чтобы направленно мигрировать в инфицированную слизистую, используя хемокиновые рецепторы, приобретенные при созревании.

Среди многочисленных хемокинов, синтез которых *H. pylori* запускает в желудке [1], наибольший рост продукции наблюдается у CCL20 и IL-8 [5, 7, 27, 28]. Соответственно, при *H. pylori*-инфекции следует ожидать интенсивную миграцию из крови в слизистую клеток, экспрессирующих рецептор CCR6/CD196, который распознает хемокин CCL20. В гетерогенную группу CCR6⁺ клеток крови входят дендритные клетки, В-лимфоциты и часть CD4⁺ Т-лимфоцитов, включая наиболее зрелую часть циркулирующих регуляторных Т-клеток, большинство Th17, часть Th1, а также малочисленные Th1/Th17 и Th22 [7, 14, 23, 28, 30]. При *H. pylori*-инфекции наблюдается обогащение слизистой желудка CCR6⁺ дендритными клетками, В-лимфоцитами, CCR6⁺ Т-клетками с фенотипом зрелых активированных клеток памяти и CCR6⁺ регуляторными Т-клетками [7, 26, 27]. Эти наблюдения подтверждают значимость CCR6-опосредованной миграции в формировании специфического сообщества клеток иммунной системы в инфицированной слизистой. В данной работе для оценки участия циркулирующих CD4⁺CCR6⁺ Т-клеток в иммунном ответе на *H. pylori* мы сравнивали количество антигенспецифических клеток среди CD4⁺CCR6⁺ и CD4⁺CCR6⁻ клеток крови людей, инфицированных и неинфицированных *H. pylori*.

Материалы и методы

Исследование проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве испытуемого» и одобрено локальным эти-

ческим комитетом ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной. Все обследованные дали информированное согласие на участие в исследовании. При исследовании действия *H. pylori* на фенотип моноцитов, пролиферацию лимфоцитов и сохранение экспрессии CCR6 *in vitro* использовалась кровь 15 взрослых здоровых доноров. При оценке индуцированной антигеном экспрессии активационных маркеров обследовали взрослых больных с подтвержденной *H. pylori*-инфекцией и диагнозом гастрит (N = 13, возраст — 42,58±3,23 года, мужчин — 53,84%) и взрослых доноров группы сравнения без *H. pylori*-инфекции (N = 7, возраст — 41,29±6,2 года, мужчин — 57,14%). Критериями исключения были прием гормональных препаратов, антибиотиков, иммуностимуляторов или вакцин в течение последнего месяца, аутоиммунные заболевания. Наличие *H. pylori* у больных подтверждали уреазным тестом и обнаружением ДНК возбудителя полимеразной цепной реакцией (ПЦР). Отсутствие *H. pylori* у доноров группы сравнения устанавливали по отсутствию антигенов *H. pylori* в кале и антител к возбудителю в сыворотке крови. Для поиска антигенов использовали «N&R *H. pylori*. One Step *H. pylori* Antigen Test Device» (Vegal Farmaceutica S.L., Испания). Поиск антител проводили с помощью иммуноферментных тест-систем «ИФА-Хеликобактер-IgG», «ИФА-Хеликобактер-IgA» и «ИФА-Хеликобактер CagA-антитела» (АО «ЭКОлаб», Россия).

Для иммунологических экспериментов *in vitro* использовали суспензии *H. pylori* с общим содержанием бактерий 8×10^8 , которые были любезно предоставлены заведующим лабораторией А.В. Матвейчевым. *H. pylori* хранили при температуре минус 70°C в эмбриональной телячьей сыворотке (FCS) с 10% диметилсульфоксида (DMSO). Перед использованием, бактерии размораживались, однократно отмывались центрифугированием и ресуспендировались средой RPMI-1640 (Gibco, Великобритания). Содержание возбудителя в суспензиях определяли с помощью ПЦР в реальном времени при сравнении с разведениями заранее изготовленного стандартного образца с исходной концентрацией 3×10^7 *H. pylori*/мл (рис. 1). Для выделения ДНК использовали набор ПРОБА-НК (ДНК-технология, Россия), а для выполнения реакции — набор реагентов для ПЦР *Helicobacter pylori* (ДНК-технология, Россия) и прибор «Stratagene Mx3005P» (Agilent Technologies, США) в соответствии с инструкциями производителей. Для анализа результатов использовали пакет программ MxPro qPCR (Agilent Technologies, США). Морфологическую сохранность бактерий оценивали микроскопией мазков, окрашенных по Граму.

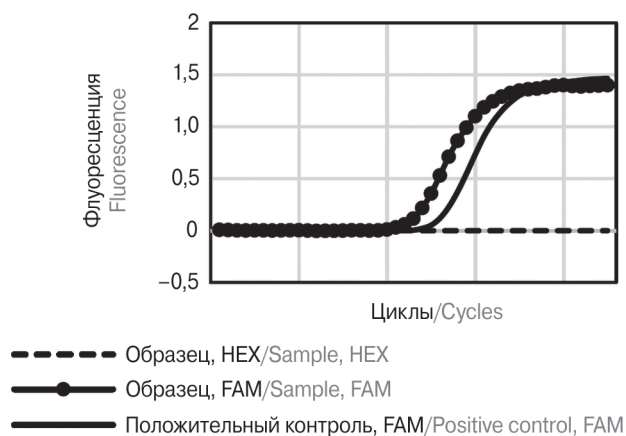


Рисунок 1. Пример результата ПЦР с ДНК из суспензии *H. pylori*

Figure 1. *H. pylori* suspension DNA PCR data

Мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС) выделяли центрифугированием над слоем Диаколл-1077 (Диа-М, Россия), дважды отмывали, и ресуспендировали в полной питательной среде (ППС) следующего состава: RPMI-1640 (Gibco, Великобритания) с 10% FCS (РАА Laboratories, Австрия). РВМС высевали в 48-луночные планшеты (Costar, США) по 2×10^6 клеток на лунку и инкубировали в течение 2 ч при $+37^\circ\text{C}$ и 5% CO_2 . Затем неприкрепившиеся лимфоциты собирали, подсчитывали и пересевали в свежие лунки. По разнице количества РВМС до адгезии и неприкрепившихся лимфоцитов после адгезии рассчитывали количество засеянных моноцитов. В работе использовали лунки с расчетным количеством моноцитов от 4×10^5 до 6×10^5 на лунку. Прикрепленные моноциты инкубировали в ППС без дополнительных стимуляторов или с добавлением *H. pylori* до концентраций от 10^4 до 10^7 бактерий/мл. Конечный объем среды в лунках составлял 0,5 мл. Моноциты культивировали при $+37^\circ\text{C}$ и 5% CO_2 в течение 20 или 44 ч и использовали для оценки фенотипа. Для этого клетки окрашивали флуоресцентно мечеными моноклональными антителами (mAb) к HLA-DR, CD14 (Сорбент, Россия), CD80 и CD86 (eBioscience, США). Анализ проводили на лазерном проточном цитофлуориметре «FacsCalibur» (BD, США), гейтируя моноциты по профилю прямого (FSC) и бокового светорассеивания (SSC) и наличию HLA-DR.

В других экспериментах моноциты, нагруженные антигенами *H. pylori*, использовали для стимуляции лимфоцитов в сингенной смешанной культуре. Для этого моноциты культивировали 20 ч без микроорганизмов или с *H. pylori* в концентрации 10^7 бактерий/мл, как это описано выше. Затем из культур отбирали среду с бактериями, моноциты осторожно промы-

вали теплой ППС и в каждую лунку вносили лимфоциты по 10^6 клеток в 0,5 мл ППС. Также засеивали контрольную лунку лимфоцитов без моноцитов. Клетки инкубировали 72 ч, собирали и окрашивали mAb к CD4 (Сорбент, Россия), CCR6 и CD134/OX40 (Elabscience, Китай). Затем клетки отмывали, фиксировали и анализировали на проточном цитофлуориметре «FacsCalibur», подсчитывая долю OX40⁺ клеток в гейтах CD4⁺CCR6⁺ и CD4⁺CCR6⁻ лимфоцитов.

Для оценки пролиферации лимфоциты перед засевом в смешанную культуру окрашивали эфиром карбоксифлуоресцеина сукцинимидила (CFSE). Для этого лимфоциты дважды отмывали забуференным фосфатом физиологическим раствором без Ca и Mg (PBS) и ресуспендировали в PBS до концентрации 10^7 клеток/мл. Непосредственно перед окрашиванием размораживали аликвоту 5 мМ раствора CFSE (eBioscience, США) на DMSO и разводили его стерильным PBS до концентрации 250 мкМ. К лимфоцитам добавляли CFSE до концентрации 2,5 мкМ и инкубировали 5 мин при $+37^\circ\text{C}$ и 5% CO_2 . Для остановки реакции к клеткам медленно добавляли 5 мл PBS, а затем 5 мл ППС, осторожно перемешивая. Клетки осаждали, однократно отмывали, ресуспендировали в ППС и засеивали в контрольные культуры и сингенные смешанные культуры с моноцитами, как это описано выше. Через 72 ч оценивали распределение CFSE в лимфоцитах с помощью проточного цитофлуориметра «FacsCalibur».

В отдельном эксперименте оценивали влияние моноцитов, нагруженных *H. pylori*, на сохранение рецептора CCR6 на мембране лимфоцитов. Для этого из РВМС выделяли CD4⁺CCR6⁺ Т-клетки с помощью магнитной сепарации, используя набор EasySep Human CD4⁺ T Cell Isolation Kit и реагенты CCR6⁺ Positive Selection Cocktail II, EasySep Releasable RapidSpheres 50201 и EasySep Release Buffer (Stemcell Technologies, Канада), как это было описано ранее [2]. Чистоту полученных клеток проверяли с помощью окрашивания mAb к CD4 (Сорбент, Россия) и CCR6 (Elabscience, Китай) и проточной цитофлуориметрии. Моноциты культивировали 20 ч без микроорганизмов или с *H. pylori* в концентрации 10^7 бактерий/мл, отмывали и в лунки с моноцитами вносили по $1,25 \times 10^5$ очищенных сингенных CD4⁺CCR6⁺ Т-клеток. Клетки культивировали 72 ч, окрашивали mAb к CCR6 и анализировали с помощью проточного цитофлуориметра «FacsCalibur», гейтируя лимфоциты по профилю FSC и SSC.

При статистическом анализе результатов антигенспецифической активации лимфоцитов использовали тест Фридмана для сравнения нескольких зависимых выборок и при отклоне-

нии нулевой гипотезы об отсутствии различий проводили сравнение пар выборок с помощью рангового теста согласованных пар Уилкоксона (далее в тексте — тест Уилкоксона). Кроме того использовали Т-тест Стьюдента для зависимых выборок и рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона.

Результаты

Исследовали ответ моноцитов и лимфоцитов на антигены *H. pylori* в условиях *in vitro*. Двадцатичасовое культивирование моноцитов крови взрослых здоровых доноров с *H. pylori* вызывало усиление экспрессии мембранных молекул CD80 и CD86, необходимых для дополнительной стимуляции Т-лимфоцитов в ходе презентации антигенов (так называемых костимулирующих молекул). Это усиление экспрессии проявлялось в росте геометрической средней интенсивности флуоресценции (GMFI) окрашенных молекул CD80 и CD86, а также в увеличении доли CD80⁺ клеток при максимальной использованной кон-

центрации *H. pylori* 10⁷ бактерий/мл (рис. 2А). Повышение GMFI образцов клеток, окрашенных в стандартных условиях, расценивалось нами как свидетельство увеличения среднего количества костимулирующих молекул на одной клетке. При культивировании часть моноцитов утрачивала свой линейный маркер CD14, однако этот процесс не зависел от наличия *H. pylori* в культуре. Также добавление *H. pylori* не влияло на экспрессию молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса HLA-DR. Культивирование моноцитов с *H. pylori* в течение 44 ч не приводило к дополнительному росту экспрессии молекул, ассоциированных со стимуляцией лимфоцитов (рис. 2Б). В связи с этим в дальнейшей работе мы инкубировали моноциты 20 ч с *H. pylori* в концентрации 10⁷ бактерий/мл.

Для оценки пролиферации лимфоцитов использовали флуоресцентный краситель CFSE, который стойко окрашивает живые клетки и при делении разделяется между дочерними клетками, в результате чего флуоресценция потомков снижается (рис. 3А). Показано, что

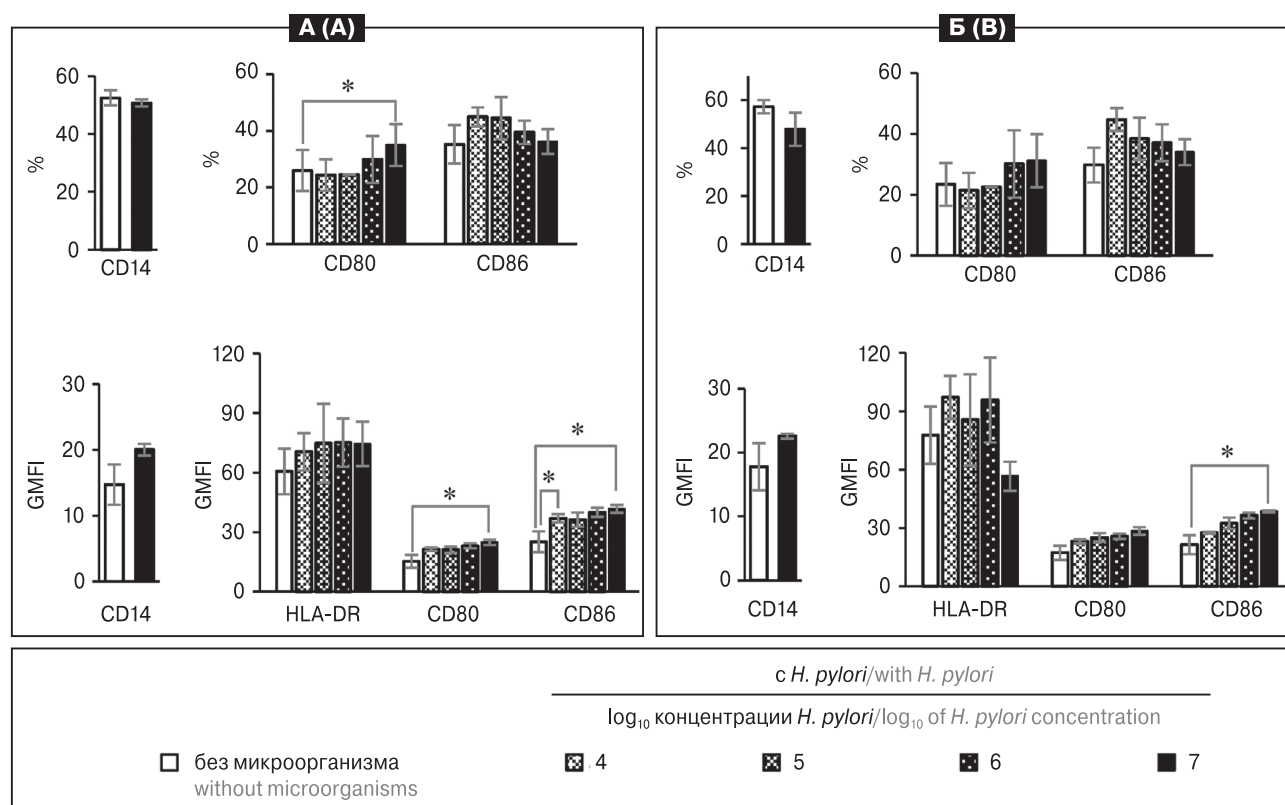


Рисунок 2. Экспрессия мембранных молекул на моноцитах через 20 (А) и 44 ч (Б) инкубирования с *H. pylori*

Figure 2. Expression of monocyte membrane molecules after 20 (A) and 44 hour (B) incubation with *H. pylori*

Примечание. Данные представлены как средняя±стандартная ошибка средней (M±SEM). Знак * показывает $p < 0,05$ в парном Т-тесте Стьюдента с поправкой Бонферрони.

Note. Data are presented as mean±standard error of the mean (M±SEM). Symbol * indicates $p < 0.05$ in paired Student's T-test with Bonferroni correction.

при культивировании лимфоцитов без моноцитов и стимуляторов в течение 72 ч в деление вступало менее 2% клеток. Совместное культивирование лимфоцитов с сингенными моноцитами более чем в 2 раза увеличивало количество делившихся лимфоцитов. Преинкубация моноцитов с *H. pylori* вызывала дополнительный небольшой, но статистически достоверный прирост количества делившихся лимфоцитов (рис. 3Б).

Поскольку в следующих экспериментах мы планировали оценить антигенспецифическую активацию Т-клеток *in vitro* в зависимости от экспрессии на них хемокинового рецептора

CCR6, мы выполнили дополнительный эксперимент, в котором показали, что культивирование Т-клеток без стимуляции или с моноцитами, нагруженными *H. pylori*, не приводит к утрате CCR6 с наружной мембраны лимфоцитов. Этот рецептор экспрессируется на значительном количестве CD4⁺ Т-лимфоцитов и на малом количестве CD8⁺ Т-клеток (рис. 3В). Для дополнительного эксперимента мы выделили CD4⁺CCR6⁺ Т-клетки с чистотой > 95% с помощью магнитной сепарации (рис. 3Г) и засеяли эти клетки в монокультуру и в смешанные сингенные культуры с моноцитами, нагруженными и не нагруженными *H. pylori*.

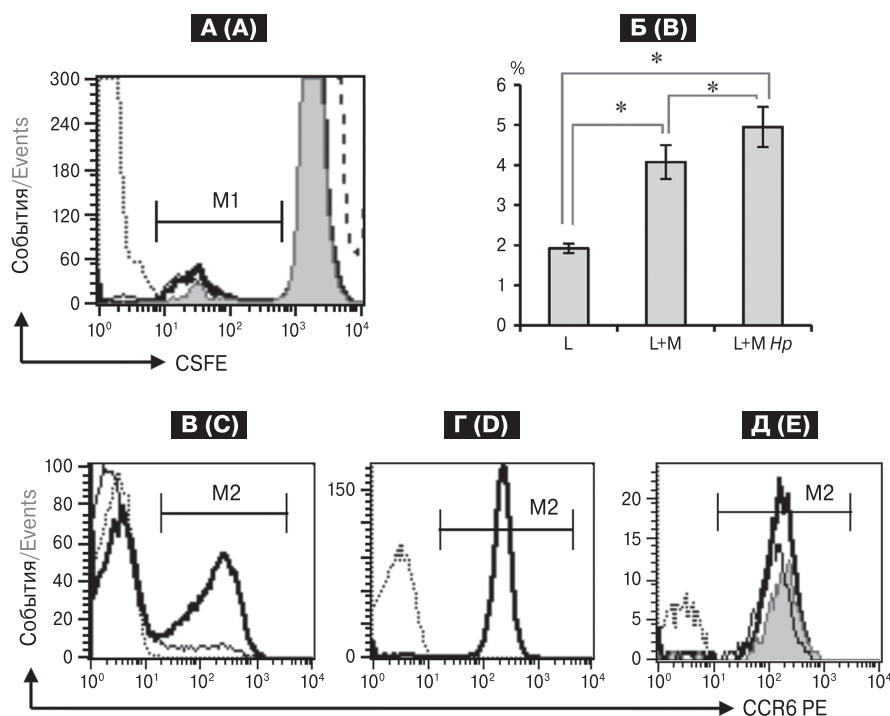


Рисунок 3. Моноциты, нагруженные *H. pylori*, усиливают пролиферацию лимфоцитов (А, Б), но не вызывают потерю рецептора CCR6 CD4⁺ Т-клетками (В-Д)

Figure 3. *H. pylori*-loaded monocytes promote lymphocyte proliferation (A, B) but cause no loss of CCR6 receptor in CD4⁺ cells (C-E)

Примечание. А) Краситель CFSE в лимфоцитах, росших без моноцитов (гистограмма с серым полем), и в лимфоцитах, росших с моноцитами, не нагруженными (тонкая черная линия) и нагруженными *H. pylori* (толстая черная линия). Отрезок M1 отмечает делившиеся клетки. Клетки, свежеекрасенные CFSE, обозначены пунктиром. Неокрашенные клетки здесь и на следующих графиках обозначены точечной линией. Б) Доля делившихся лимфоцитов в культурах лимфоцитов (L) и в смешанных культурах лимфоцитов с моноцитами, не нагруженными (L+M) и нагруженными *H. pylori* (L+M Hp). Данные представлены как M±SEM (N = 9). Знак * отмечает p < 0,01 в парном Т-тесте Стьюдента. Экспрессия CCR6 на CD4⁺ (толстая линия) и CD8⁺ (тонкая линия) лимфоцитах крови до разделения (В), на очищенных CCR6⁺CD4⁺ Т-клетках (толстая линия) непосредственно после выделения (Г) и через 3 суток культивирования без моноцитов (гистограмма с серым полем) или с моноцитами, ненагруженными (тонкая линия) и нагруженными *H. pylori* (толстая линия) (Д). Отрезки M2 отмечают CCR6⁺ клетки.

Note. A) CFSE dye in lymphocytes grown without monocytes (histogram shaded in gray) and in lymphocytes grown with unloaded (thin black line) and *H. pylori*-loaded (thick black line) monocytes. The M1 segment marks dividing cells. Cells freshly stained with CFSE are indicated by dash line. Unstained cells here and in the following plots are indicated by a dotted line. B) The percentage of dividing lymphocytes in lymphocyte cultures (L) and in mixed cultures of lymphocytes with monocytes, not loaded (L+M) and loaded with *H. pylori* (L+M Hp). Data are presented as M±SEM (N = 9). Symbol * indicates p < 0.01 in dependent Student's T-test. C) Expression of CCR6 on CD4⁺ (thick line) and CD8⁺ (thin line) blood lymphocytes before separation (C), on purified CD4⁺CCR6⁺ T cells (thick line) immediately after separation (D) and after 3 days of cultivation without monocytes (histogram with gray field) or with monocytes unloaded (thin line) and loaded with *H. pylori* (thick line) (E). The M2 segments mark CCR6⁺ cells.

Оценка фенотипа клеток через 72 ч культивирования показала, что лимфоциты полностью сохранили экспрессию CCR6 во всех трех типах культур, включая культуры с моноцитами, нагруженными *H. pylori* (рис. 3Д).

Для выявления антигенспецифических Т-клеток оценивали экспрессию маркера активации OX40 на CD4⁺CCR6⁺ и CD4⁺CCR6⁻ лимфоцитах крови при культивировании с моноцитами, нагруженными антигенами *H. pylori*. В качестве контрольных использовали культуры лимфоцитов, а также смешанные культуры лимфоцитов с моноцитами без антигенов возбудителя. В экспериментах использовались клетки крови пациентов с *H. pylori*-инфекцией и здоровых доноров, кровь которых не содержала антитела к возбудителю, а кал — антигены *H. pylori*. Показано, что в культурах клеток крови инфицированных пациентов антигены *H. pylori* увеличивали количество активированных CD4⁺ Т-лимфоцитов (рис. 4). У этих пациентов в контрольных культурах лимфоцитов маркер OX40 спонтанно экспрессировали 3,06±0,55% CD4⁺CCR6⁺ лимфоцитов и 0,55±0,18% CD4⁺CCR6⁻ лимфоцитов (здесь и далее в тексте данные приведены как M±SEM). Добавление

к лимфоцитам сингенных моноцитов без антигенов возбудителя усиливало экспрессию активационного маркера OX40. Использование моноцитов, нагруженных антигенами *H. pylori*, вызывало значительный дополнительный прирост количества OX40⁺ активированных клеток в обеих анализируемых субпопуляциях лимфоцитов инфицированных пациентов (рис. 4А). Индуцированный антигеном рост количества активированных клеток у инфицированных лиц обладал высоким уровнем статистической достоверности: вероятность отсутствия различий (показатель Р) доли активированных клеток в культурах с антигенами *H. pylori* и без них в тесте Уилкоксона составлял всего лишь p = 0,0024 для CD4⁺CCR6⁺ клеток и p = 0,0081 для CD4⁺CCR6⁻ клеток. Однако величина антиген-индуцированного прироста в двух субпопуляциях клеток заметно различалась. В субпопуляции CD4⁺CCR6⁺ лимфоцитов антигены *H. pylori* обуславливали прирост количества активированных клеток на 1,89±0,55%. В субпопуляции CD4⁺CCR6⁻ клеток этот показатель был значительно меньше (p = 0,0012 в тесте Уилкоксона) и составлял всего лишь 0,58±0,19%.

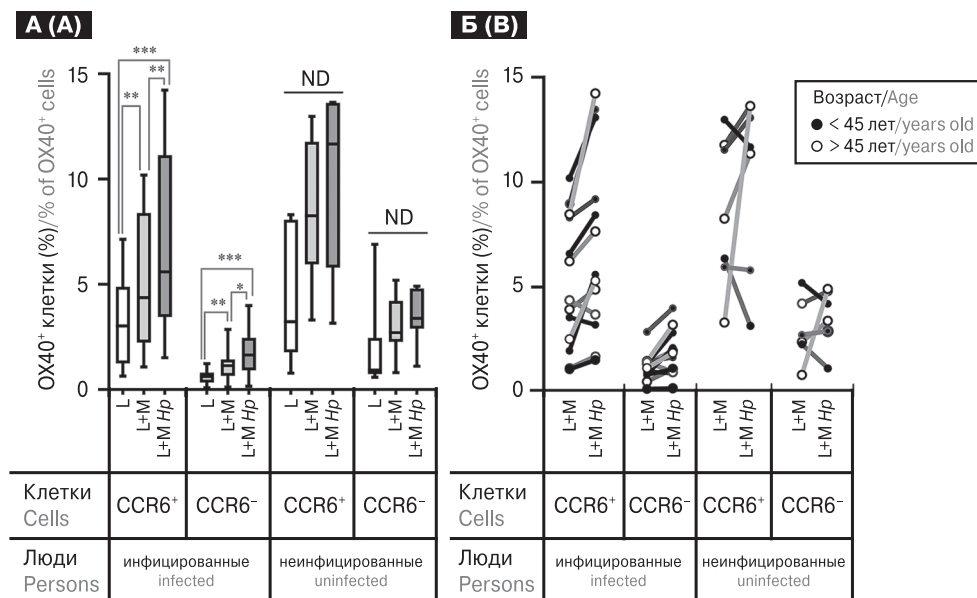


Рисунок 4. Доля активированных OX40⁺ лимфоцитов среди CD4⁺ Т-клеток, различающихся по экспрессии CCR6, в культурах лимфоцитов (L) и в смешанных культурах лимфоцитов с моноцитами, не нагруженными (L+M) и нагруженными антигенами *H. pylori* (L+M Hp)

Figure 4. Percentage of activated OX40⁺ CD4⁺ T cells with varying CCR6 expression level in lymphocyte cultures (L) and mixed lymphocyte cultures with monocytes loaded (L+M) or not with *H. pylori* antigens (L+M Hp)

Примечание. А) Медиана, нижний и верхний квартили, минимальное и максимальное значение представлены в виде коробчатой диаграммы. Результаты сравнения в ранговом тесте согласованных пар Уилкоксона показаны следующими знаками: *p < 0,01; **p < 0,005; ***p < 0,001. Б) Данные представлены в виде индивидуальных значений с разделением обследованных по возрасту.

Note. A) The box plot shows medians, lower and upper quartiles, minimum and maximum values. The comparison results in the Wilcoxon matched pairs rank test are shown by the following signs: *p < 0.01; **p < 0.005; ***p < 0.001. B) Data are presented as individual values. The subjects were divided by age.

В культурах клеток крови *H. pylori*-негативных доноров нагрузка моноцитов антигенами возбудителя не вызывала достоверного прироста количества OX40⁺ клеток ни среди CD4⁺CCR6⁺ лимфоцитов, ни среди CD4⁺CCR6⁻ лимфоцитов (рис. 4А). Анализ индивидуальных значений показал, что среди *H. pylori*-негативных доноров были люди, лимфоциты которых ответили на антигены *H. pylori* увеличением доли OX40⁺ клеток, а также люди, у которых доля активированных клеток под действием антигенов снижалась. Интересно, что у трех *H. pylori*-негативных доноров, имеющих возраст 47, 60 и 61 год, лимфоциты ответили на антиген увеличением доли OX40⁺ клеток, причем это увеличение наблюдалось в обеих анализируемых субпопуляциях лимфоцитов (рис. 4Б). Остальные неинфицированные обследованные имели возраст 40 и менее лет, и из них лишь у одного был зарегистрирован небольшой антигениндуцированный рост количества активированных клеток среди CD4⁺CCR6⁺ лимфоцитов, тогда как у остальных доноров антигены возбудителя вызывали снижение доли активированных клеток в обеих субпопуляциях лимфоцитов. В результате, в группе *H. pylori*-негативных доноров коэффициент корреляции возраста с *H. pylori*-индуцированным изменением количества активированных клеток составил 0,73 для субпопуляции CD4⁺CCR6⁺ лимфоцитов и 0,77 для субпопуляции CD4⁺CCR6⁻ лимфоцитов, что говорит о прямой связи возраста и количества CD4⁺ Т-лимфоцитов, отвечающих активацией на антигены *H. pylori*. В группе инфицированных пациентов, у подавляющего большинства обследованных наблюдался активационный ответ лимфоцитов на антигены *H. pylori*, и связь возраста и характера ответа на антиген не прослеживалась (коэффициенты корреляции: -0,18908633 для CD4⁺CCR6⁺ клеток и -0,097448579 — для CD4⁺CCR6⁻ клеток).

Обсуждение

Ранее мы показали, что при *H. pylori*-инфекции в крови значительно увеличивается содержание зрелых CD4⁺CCR6⁺ Т-лимфоцитов [3], и в этой группе лимфоцитов возрастает доля провоспалительных Th1, Th17 и Th1/Th17 [2]. Для определения вовлеченности CCR6⁺ Т-клеток в иммунный ответ на *H. pylori* в данной работе оценивали способность этих клеток распознавать антигены возбудителя. В ходе подготовительных экспериментов было показано, что моноциты реагируют на *H. pylori* небольшим усилением экспрессии костимулирующих

молекул CD80 и CD86 и ростом способности стимулировать пролиферацию сингенных лимфоцитов. Однако прирост пролиферации, индуцированный антигенами *H. pylori*, был небольшим, что затрудняло определение фенотипа активированных антигеном клеток. В связи с этим для идентификации CD4⁺ Т-клеток, реагирующих на антигены *H. pylori*, мы применили определение экспрессии молекулы OX40, которая используется в качестве маркера активации CD4⁺ Т-лимфоцитов, отдельно или в сочетании с определением других активационных молекул, таких как CD25, CD137 или PD-L1 [21, 24, 29]. В модели презентации антигенов в сингенных смешанных культурах было показано, что CD4⁺ Т-лимфоциты крови инфицированных пациентов содержат выявляемое количество клеток, реагирующих активацией на антигены *H. pylori*. Сравнение CD4⁺CCR6⁺ и CD4⁺CCR6⁻ лимфоцитов инфицированных пациентов показало, что CCR6⁺ субпопуляция содержит значительно большее количество лимфоцитов, специфичных к антигенам возбудителя. У доноров группы сравнения, не имеющих *H. pylori*-инфекции на момент обследования, презентация антигенов возбудителя не влияла на средние показатели активации CD4⁺ Т-лимфоцитов в смешанных культурах клеток крови. При этом индивидуальная реакция Т-клеток доноров на антигены *H. pylori* различалась и зависела от возраста обследованных. У лиц среднего и пожилого возраста в крови были обнаружены CD4⁺ Т-клетки, реагирующие активацией на антигены возбудителя, тогда как у доноров молодого возраста преобладало небольшое подавление активации Т-клеток в присутствии антигенов *H. pylori*. Мы предполагаем, что наличие антигенспецифических Т-клеток в крови *H. pylori*-негативных доноров среднего и пожилого возраста свидетельствует о сохранении этими лицами клеточной иммунной памяти о предшествующих контактах с *H. pylori*, несмотря на отсутствие у этих доноров антигенспецифических антител в крови. Для подтверждения этого предположения требуется проведение более масштабного и длительного исследования.

Заключение

Кровь пациентов с *H. pylori*-инфекцией содержит CD4⁺ Т-клетки, реагирующие активацией на антигены *H. pylori*. CD4⁺CCR6⁺ Т-клетки крови пациентов с *H. pylori*-инфекцией, содержат большее количество антигенспецифических лимфоцитов по сравнению с CD4⁺CCR6⁻ Т-клетками.

Список литературы/References

1. Талаев В.Ю., Бабайкина О.Н., Светлова М.В. Результаты взаимодействия эпителия желудка с *Helicobacter pylori*: повреждение клеток, участие эпителиоцитов в иммунном ответе, канцерогенез // Иммунология. 2021. Т. 42, № 5. С. 62–70. [Talayev V.Yu., Babaykina O.N., Svetlova M.V. Results of the interaction of gastric epithelium with *Helicobacter pylori*: cell damage, participation of epithelial cells in the immune response, carcinogenesis. *Immunologiya = Immunologiya*, 2021, vol. 42, no. 5, pp. 62–70. (In Russ.)] doi: 10.33029/0206-4952-2021-42-5-0-01
2. Талаев В.Ю., Светлова М.В., Заиченко И.Е., Воронина Е.В., Бабайкина О.Н., Неумоина Н.В., Перфилова К.М., Уткин О.В., Филатова Е.Н. Цитокиновый профиль CCR6⁺ Т-хелперов, выделенных из крови пациентов с язвенной болезнью, ассоциированной с *H. pylori*-инфекцией // Современные технологии в медицине. 2020. Т. 12, № 3. С. 33–40. [Talayev V.Yu., Svetlova M.V., Zaichenko I.E., Voronina E.V., Babaykina O.N., Neumoina N.V., Perfilova K.M., Utkin O.V., Filatova E.N. Cytokine profile of CCR6⁺ T-helpers isolated from the blood of patients with peptic ulcer associated with *Helicobacter pylori* infection. *Sovremennye tehnologii v medicine = Modern Technologies in Medicine*, 2020, vol. 12, no. 3, pp. 33–40. (In Russ.)] doi: 10.17691/stm2020.12.3.04
3. Талаев В.Ю., Талаева М.В., Воронина Е.В., Заиченко И.Е., Неумоина Н.В., Перфилова К.М., Бабайкина О.Н. Экспрессия хемокиновых рецепторов на Т-хелперах крови при заболеваниях, ассоциированных с *Helicobacter pylori*: хроническом гастродуодените и язвенной болезни // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 2. С. 295–303. [Talayev V.Yu., Talaeva M.V., Voronina E.V., Zaichenko I.Ye., Neumoina N.V., Perfilova K.M., Babaykina O.N. Chemokine receptor expression on peripheral blood T-helper cells in *Helicobacter pylori*-associated diseases: chronic gastroduodenitis and peptic ulcer disease. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, vol. 9, no. 2, pp. 295–303. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-2-295-303
4. Camilo V., Sugiyama T., Touati E. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, 2017, vol. 22 (suppl. 1): e12405. doi: 10.1111/hel.12405
5. Chen J.-P., Wu M.-S., Kuo S.-H., Liao F. IL-22 negatively regulates *Helicobacter pylori*-induced CCL20 expression in gastric epithelial cells. *PLoS One*, 2014, vol. 9: e97350. doi: 10.1371/journal.pone.0097350
6. Cheng H.H., Tseng G.Y., Yang H.B., Wang H.J., Lin H.J., Wang W.C. Increased numbers of Foxp3-positive regulatory T cells in gastritis, peptic ulcer and gastric adenocarcinoma. *World J. Gastroenterol.*, 2012, vol. 18, no. 1, pp. 34–43. doi: 10.3748/wjg.v18.i1.34
7. Cook K.W., Letley D.P., Ingram R.J., Staples E., Skjoldmose H., Atherton J.C., Robinson K. CCL20/CCR6-mediated migration of regulatory T cells to the *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *Gut*, 2014, vol. 63, no. 10, pp. 1550–1559. doi: 10.1136/gutjnl-2013-306253
8. D'Elios M.M., Czinn S.J. Immunity, inflammation, and vaccines for *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 2014, vol. 19 (s1), pp. 19–26. doi: 10.1111/hel.12156
9. Eaton K.A., Mefford M., Thevenot T. The role of T cell subsets and cytokines in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* gastritis in mice. *J. Immunol.*, 2001, vol. 166, no. 12, pp. 7456–7461. doi: 10.4049/jimmunol.166.12.7456
10. Graham D.Y., Opekun A.R., Osato M.S., El-Zimaity H.M., Lee C.K., Yamaoka Y., Qureshi W.A., Cadoz M., Monath T.P. Challenge model for *Helicobacter pylori* infection in human volunteers. *Gut*, 2004, vol. 53, no. 9, pp. 1235–1243. doi: 10.1136/gut.2003.037499
11. Gray B.M., Fontaine C.A., Poe S.A., Eaton K.A. Complex T cell interactions contribute to *Helicobacter pylori* gastritis in mice. *Infect. Immun.*, 2013, vol. 81, no. 3, pp. 740–752. doi: 10.1128/IAI.01269-12
12. Kao J.Y., Zhang M., Miller M.J., Mills J.C., Wang B., Liu M., Eaton K.A., Zou W., Berndt B.E., Cole T.S., Takeuchi T., Owyang S.Y., Luther J. *Helicobacter pylori* immune escape is mediated by dendritic cell-induced Treg skewing and Th17 suppression in mice. *Gastroenterology*, 2010, vol. 138, no. 3, pp. 1046–1054. doi: 10.1053/j.gastro.2009.11.043
13. Kiriya K., Watanabe N., Nishio A., Okazaki K., Kido M., Saga K., Tanaka J., Akamatsu T., Ohashi S., Asada M., Fukui T., Chiba T. Essential role of Peyer's patches in the development of *Helicobacter*-induced gastritis. *Int. Immunol.*, 2007, vol. 19, no. 4, pp. 435–446. doi: 10.1093/intimm/dxm008
14. Kleinewietfeld M., Puentes F., Borsellino G., Battistini L., Röttschke O., Falk K. CCR6 expression defines regulatory effector/memory-like cells within the CD25⁺CD4⁺ T-cell subset. *Blood*, 2005, vol. 105, no. 7, pp. 2877–2886. doi: 10.1182/blood-2004-07-2505
15. Kronsteiner B., Bassaganya-Riera J., Philipson C., Viladomiu M., Carbo A., Abedi V., Hontecillas R. Systems-wide analyses of mucosal immune responses to *Helicobacter pylori* at the interface between pathogenicity and symbiosis. *Gut Microbes*, 2016, vol. 7, pp. 3–21. doi: 10.1080/19490976.2015.1116673
16. Lina T.T., Alzahrani S., Gonzalez J., Pinchuk I.V., Beswick E.J., Reyes V.E. Immune evasion strategies used by *Helicobacter pylori*. *World J. Gastroenterol.*, 2014, vol. 20, pp. 12753–12766. doi: 10.3748/wjg.v20.i36.12753
17. Marshall B.J., Warren J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 1984, vol. 1, pp. 1311–1315. doi: 10.1016/s0140-6736(84)91816-6
18. Moyat M., Velin D. Immune responses to *Helicobacter pylori* infection. *World J. Gastroenterol.*, 2014, vol. 20, pp. 5583–5593. doi: 10.3748/wjg.v20.i19.5583
19. Müller A., Solnick J.V. Inflammation, immunity, and vaccine development for *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 2011, vol. 16 (s1), pp. 26–32. doi: 10.1111/j.1523-5378.2011.00877.x
20. Nurgalieva Z.Z., Conner M.E., Opekun A.R., Zheng C.Q., Elliott S.N., Ernst P.B., Estes M.K., Graham D.Y. B-cell and T-cell immune responses to experimental *Helicobacter pylori* infection in humans. *Infect. Immun.*, 2005, vol. 73, no. 5, pp. 2999–3006. doi: 10.1128/IAI.73.5.2999-3006.2005
21. Reiss S., Baxter A.E., Cirelli K.M., Dan J.M., Morou A., Daigneault A., Brassard N., Silvestri G., Routy J.P., Havenar-Daughton C., Crotty S., Kaufmann D.E. Comparative analysis of activation induced marker (AIM) assays for sensitive identification of antigen-specific CD4 T cells. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 10: e0186998. doi: 10.1371/journal.pone.0186998

22. Roth K., Kapadia S., Martin S., Lorenz R. Cellular immune responses are essential for the development of *Helicobacter felis*-associated gastric pathology. *J. Immunol.*, 1999, vol. 163, no. 3, pp. 1490–1497.
23. Singh S.P., Zhang H.H., Tsang H., Gardina P.J., Myers T.G., Nagarajan V. Lee C.H., Farber J.M. PLZF regulates CCR6 and is critical for the acquisition and maintenance of the Th17 phenotype in human cells. *J. Immunol.*, 2015, vol. 194, no. 9, pp. 4350–4361. doi: 10.4049/jimmunol.1401093
24. Tarke A., Sidney J., Methot N., Yu E.D., Zhang Y., Dan J.M., Goodwin B., Rubiro P., Sutherland A., Wang E., Frazier A., Ramirez S.I., Rawlings S.A., Smith D.M., da Silva Antunes R., Peters B., Scheuermann R.H., Weiskopf D., Crotty S., Grifoni A., Sette A. Impact of SARS-CoV-2 variants on the total CD4⁺ and CD8⁺ T cell reactivity in infected or vaccinated individuals. *Cell. Rep. Med.*, 2021, vol. 2, no. 7: 100355. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100355
25. Wu Y.-Y., Chen J.H., Kao J.T., Liu K.C., Lai C.H., Wang Y.M., Hsieh C.T., Tzen J.T., Hsu P.N. Expression of CD25(high) regulatory T cells and PD-1 in gastric infiltrating CD4(+) T lymphocytes in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2011, vol. 18, no. 7, pp. 1198–1201. doi: 10.1128/CVI.00422-10
26. Wu Y.-Y., Hsieh C.-T., Tsay G.J., Kao J.-T., Chiu Y.-M., Shieh D.-C., Lee Y.-J. Recruitment of CCR6⁺ Foxp3⁺ regulatory gastric infiltrating lymphocytes in *Helicobacter pylori* gastritis. *Helicobacter*, 2019, vol. 24, no. 1: e12550. doi: 10.1111/hel.12550
27. Wu Y.-Y., Tsai H.-F., Lin W.-C., Hsu P.-I., Shun C.-T., Wu M.-S., Hsu P.-N. Upregulation of CCL20 and recruitment of CCR6⁺ gastric infiltrating lymphocytes in *Helicobacter pylori* gastritis. *Infect. Immun.*, 2007, vol. 75, no. 9, pp. 4357–4363. doi: 10.1128/IAI.01660-06
28. Yoshida A., Isomoto H., Hisatsune J., Nakayama M., Nakashima Y., Matsushima K., Mizuta Y., Hayashi T., Yamaoka Y., Azuma T., Moss J., Hirayama T., Kohno S. Enhanced expression of CCL20 in human *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Clin. Immunol.*, 2009, vol. 130, no. 3, pp. 290–297. doi: 10.1016/j.clim.2008.09.016
29. Zaunders J.J., Munier M.L., Seddiki N., Pett S., Ip S., Bailey M., Xu Y., Brown K., Dyer W.B., Kim M., de Rose R., Kent S.J., Jiang L., Breit S.N., Emery S., Cunningham A.L., Cooper D.A., Kelleher A.D. High levels of human antigen-specific CD4⁺ T cells in peripheral blood revealed by stimulated coexpression of CD25 and CD134 (OX40). *J. Immunol.*, 2009, vol. 183, no. 4, pp. 2827–2836. doi: 10.4049/jimmunol.0803548
30. Zhang K., Chen L., Zhu C., Zhang M., Liang C. Current knowledge of Th22 cell and IL-22 functions in infectious diseases. *Pathogens*, 2023, vol. 12, no. 2: 176. doi: 10.3390/pathogens12020176

Авторы:

Талаев В.Ю., д.м.н., профессор, зав. лабораторией клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Заиченко И.Е., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Светлова М.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Воронина Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Бабайкина О.Н., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Неумоина Н.В., к.м.н., главный врач Клиники инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Перфилова К.М., к.м.н., зам. главного врача Клиники инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия.

Authors:

Talayev V.Yu., DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Zaichenko I.Ye., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Svetlova M.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Voronina E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Babaykina O.N., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Neumoina N.V., PhD (Medicine), Head Physician, Infectious Diseases Clinic, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Perfilova K.M., PhD (Medicine), Deputy Head Physician, Infectious Diseases Clinic, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ РИНОСИНУСИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФЕНОТИПА ЗАБОЛЕВАНИЯ

О.В. Смирнова, А.А. Сняжков

ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

Резюме. Полость носа и параназальные синусы играют важную роль в физиологических процессах человеческого организма, что обуславливает неизменное внимание врачей многих специальностей к состоянию и патологическим изменениям вышеуказанных отделов дыхательной системы. Риносинуситы занимают одно из ведущих мест в структуре воспалительной патологии околоносовых пазух независимо от возраста, климатической зоны проживания и уровня жизни пациента. Хронический риносинусит встречается реже, чем острый, однако считается самым частым хроническим заболеванием. Данная патология развивается в среднем у 5% населения, последние 10 лет отмечается рост заболеваемости ХРС более чем в 2 раза. В структуре госпитализированных в оториноларингологические стационары пациенты с ХРС составляют 25–30%, ежегодно этот показатель увеличивается в среднем на 1–2%. Целью исследования явилась оценка изменений клеточного и гуморального иммунитета у пациентов с хроническим риносинуситом в зависимости от фенотипа. Был отобран 91 пациент с хроническим риносинуситом. Для исследования клеточного иммунитета применяли метод проточной цитометрии (проточный цитофлуориметр «Cytomics FC500», моноклональные антитела CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ (Beckman Coulter, США)). Для измерения уровней иммуноглобулинов различных классов (А, М, Е, G) в сыворотке крови использовался иммуноферментный анализ (ИФА). Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008). В исследовании были выявлены изменения в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета при хроническом риносинусите в различных фенотипах заболевания: при хроническом аллергическом риносинусите — 5; при хроническом полипозном риносинусите — 4; при хроническом инфекционном риносинусите — 3; при хроническом гиперпластическом риносинусите — 4. При аллергическом хроническом риносинусите выявлялись изменения в виде увеличения абсолютного содержания В-лимфоцитов, гипергаммаглобулинемия Е и снижение 3 индексов относительного синтеза. При полипозном хроническом риносинусите обнаружено увеличение абсолютного содержания В-лимфоцитов, гипергаммаглобулинемия Е и снижение 2 индексов относительного синтеза. При инфекционном хроническом риносинусите выявлялось увеличение содержания В-лимфоцитов и снижение 2 индексов относительного синтеза. При гиперпластическом хроническом риносинусите имелось увеличение абсолютного содержания Т-хелперов, В-лимфоцитов и снижение абсолютного числа цитотоксических Т-лимфоцитов и 2 индексов относительного синтеза.

Ключевые слова: оториноларингология, хронический риносинусит, фенотипы риносинусита, клеточное звено иммунитета, гуморальное звено иммунитета, моноклональные антитела, проточная цитометрия, иммуноферментный анализ.

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, Scientific Research
Institute of Medical Problems of the North.
Phone: +7 913 567-97-19. E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Для цитирования:

Смирнова О.В., Сняжков А.А. Изменения клеточного и гуморального иммунитета у пациентов с хроническим риносинуситом в зависимости от фенотипа заболевания // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1097–1103. doi: 10.15789/2220-7619-DPA-17705

Citation:

Smirnova O.V., Snyakov A.A. Disease phenotype-driven alterations in cellular and humoral immunity during chronic rhinosinusitis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1097–1103. doi: 10.15789/2220-7619-DPA-17705

DISEASE PHENOTYPE-DRIVEN ALTERATIONS IN CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY DURING CHRONIC RHINOSINUSITIS

Smirnova O.V., Sinyakov A.A.

Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center" of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. Human nasal cavity and paranasal sinuses play a crucial role in the physiological processes in vivo that accounts for the constant attention of doctors of many specialties to the state and pathological changes in the respiratory compartments noted above. Rhinosinuses hold one of the leading places in the pattern of inflammatory pathology of the paranasal sinuses, regardless of patient age, the climatic zone of residence and living style level. Chronic vs acute rhinosinusitis is less widespread but considered to be the most common chronic disease. This pathology develops on average in 5% population, and CRS incidence increased more than by 2-fold over the last 10 years. In the pattern of subjects admitted to otorhinolaryngological hospitals, CRS comprises 25–30% that progressively elevates by mean 1–2% every year. The aim of the study was to evaluate disease phenotype-driven alterations in cellular and humoral immunity in patients with chronic rhinosinusitis. 91 patients with chronic rhinosinusitis were selected. For the study of cellular immunity, a flow cytometry was used with "Cytomics FC500" (Beckman Coulter, USA) and monoclonal antibodies CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ (Beckman Coulter, USA). To measure the levels of blood serum immunoglobulins of various classes (A, M, E, G), an enzyme-linked immunosorbent analysis (ELISA) was used. Statistical data processing was carried out using Statistica for Windows 8.0 application programs (StatSoftink, USA, 2008). The study revealed changes in the cellular and humoral links of immunity in chronic rhinosinusitis coupled to distinct disease phenotypes: with chronic allergic rhinosinusitis — 5; in chronic polyposis rhinosinusitis — 4; in chronic infectious rhinosinusitis — 3; in chronic hyperplastic rhinosinusitis — 4. With allergic chronic rhinosinusitis, it was linked to higher absolute B-lymphocyte count, hypergammaglobulinemia E and a decrease in 3 indices of relative synthesis were revealed. Polyposis chronic rhinosinusitis was associated with elevated in absolute B-lymphocyte level, hypergammaglobulinemia E and decrease in 2 indices of relative synthesis, whereas infectious chronic rhinosinusitis was accompanied by increased B-lymphocyte level and decrease in 2 indices of relative synthesis. Hyperplastic chronic rhinosinusitis patients had higher in absolute T- and B-lymphocyte count and a decreased absolute cytotoxic T-lymphocyte level along with 2 indices of relative synthesis.

Key words: otorhinolaryngology, chronic rhinosinusitis, rhinosinusitis phenotypes, cellular immunity, humoral immunity, monoclonal antibodies, flow cytometry, linked immunosorbent assay.

Введение

Врачи различных специальностей проявляют большой интерес к состоянию и патологическим изменениям полости носа и параназальных синусов, так как эти отделы дыхательной системы тесно взаимосвязаны с физиологическими процессами в организме человека. Риносинуситы занимают ведущее место в структуре воспалительных заболеваний околоносовых пазух в независимости от возрастной группы, климатической зоны и уровня жизни [5]. Хронический риносинусит (ХРС), хоть и встречается реже острого, однако считается наиболее распространенным хроническим заболеванием [9, 12]. Согласно статистическим данным, хронический риносинусит наблюдается у 5% населения, и за последние 10 лет количество заболевших выросло более чем вдвое [4]. Ежегодно количество пациентов с ХРС, госпитализированных в оториноларингологические стационары, увеличивается на 1–2%, составляя 25–30% от общего числа госпитализированных [3].

Продолжительное воспаление носовых пазух и полости носа, длящееся более 12 недель, называется хроническим риносинуситом. По мнению большинства экспертов, в этот период про-

исходят необратимые патоморфологические изменения в слизистой оболочке и глубинных слоях параназальных синусов. При длительном воспалительном процессе возникают изменения в тканях, такие как повреждение эпителия, десквамация, утолщение базальной мембраны, отек подслизистого слоя и гиперплазия бокаловидных клеток, что приводит к заметному нарушению функции механизма очищения дыхательных путей [1, 10]. Нарушение мукоцилиарного клиренса при патологическом функционировании системы врожденного иммунитета слизистой оболочки носа и околоносовых пазух приводит к увеличению восприимчивости к вирусным и бактериальным инфекциям верхних дыхательных путей, что поддерживает персистенцию воспалительного процесса [2].

Хронический риносинусит включает в себя множество клинических и морфологических форм, что затрудняет их классификацию. Разнообразие фенотипов и недостаточное понимание патологических изменений осложняют систематизацию заболевания и создание единой клинической классификации.

Хронический риносинусит может проявляться в таких формах, как аллергическая, полипозная, инфекционная и гиперпластическая. В системе классификации болезней 10-го пере-

смотр (МКБ-10) хронический риносинусит разделяют по группам в зависимости от поражения, игнорируя особенности этиопатогенеза и патоморфологические изменения. За границей часто выделяют два типа этого заболевания: с полипами и без них [6]. Из литературных данных следует, что у пациентов с различными формами ХРС наблюдаются изменения в работе первой линии защиты. Эти изменения проявляются в уменьшении объема слизи в носу, ухудшении функции ресничек, увеличении проницаемости межклеточных пространств для различных растворов, ионов и крупных молекул из-за уменьшения плотности защитного эпителия. Также отмечается нарушение сигнального пути, ответственного за TLR, а также снижение фагоцитарной активности соответствующих клеток и многое другое. В результате этих нарушений возникает повышенная чувствительность к инфекциям верхних дыхательных путей, вызванным вирусами и бактериями. Это приводит к длительному воспалительному процессу и изменениям клеточного и гуморального иммунитета у данных пациентов [8, 11, 14].

В связи с неуклонным ростом заболеваемости ХРС, изучение фенотипических особенностей заболевания является важнейшим направлением в клинической медицине. В связи с этим целью нашей работы стала оценка изменений клеточного и гуморального иммунитета у пациентов с хроническим риносинуситом в зависимости от фенотипа.

Материалы и методы

Исследование проведено на базе лаборатории клинической патофизиологии в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера». Объектом исследования являлись больные с хроническими риносинуситами, госпитализированные в ЛОР-отделение клиники института и отобранные методом сплошной выборки. В рамках клинического обследования пациентов использовался комплексный подход, который охватывал не только сбор информации о жалобах и истории болезни, но и проведение объективных осмотров, в том числе специализированных проверок ЛОР-органов. Дополнительно применялись методы визуализации, такие как рентген и компьютерная томография синусов, в соответствии с последними медицинскими стандартами 2022 г. Важной частью диагностики являлся также учет всех имеющихся у пациента острых и хронических

заболеваний во время осмотра оториноларингологом. Шифровка диагнозов осуществлялась по статистической классификации болезней, травм и причин смерти (МКБ-10).

Основными критериями включения пациентов в исследование было наличие жалоб на частые в течение года, длительные выделения из полости носа, сопровождающиеся болями, дискомфортом, чувством давления или распиравания в области околоносовых пазух, диагноз верифицировался согласно клиническим рекомендациям МЗ (2022). Из исследования были исключены пациенты, имеющие инфекционные и острые заболевания других органов и систем, обострение и декомпенсацию хронических сопутствующих соматических заболеваний и отказавшиеся принять участие в изучении.

Всего был отобран 91 пациент с хроническим риносинуситом ($48,7 \pm 3,9$ лет), из них пациенты с хроническим аллергическим риносинуситом (ХРС) составили 13 человек ($43,7 \pm 3,3$ лет), с хроническим полипозным риносинуситом — 10 человек ($45,7 \pm 4,3$ лет), с хроническим инфекционным риносинуситом — 54 человека ($44,7 \pm 3,3$ лет), с хроническим гиперпластическим риносинуситом — 14 человек ($47,7 \pm 4,2$ лет). Контрольную группу составили 35 практически здоровых донора крови ($46,7 \pm 3,5$ лет), сопоставимых по полу и возрасту с исследуемыми группами, проходивших плановое обследование в клинике института.

Для исследования клеточного иммунитета использовали метод проточной цитометрии. Для данного исследования использовали проточный цитофлуориметр «Cytomics FC500» (Beckman Coulter, США). Для выявления и анализа лимфоцитов применялись специализированные моноклональные антитела CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ (Beckman Coulter, США). В дополнение к этому для измерения уровней иммуноглобулинов различных классов (А, М, Е, G) в сыворотке крови использовался иммуноферментный анализ (ИФА). Оценку состояния гуморального звена иммунитета проводили на основе уровней относительного синтеза IgA (IgA/CD19⁺), IgE (IgE/CD19⁺), IgG (IgG/CD19⁺), IgM (Ig M/CD19⁺) (Земсков А.М., Земсков В.М., 1994).

По результатам исследования на персональном компьютере в пакете электронных таблиц MS Excel 2010 была сформирована база данных. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008) и Microsoft Excel, 2007 (Microsoft, США). Обработка полученных данных включала подсчет непараметрических показателей: медианы (Me) и перцентилей (C₂₅–C₇₅). Статистическую

Таблица 1. Иммунологические показатели у пациентов с хроническим риносинуситом в зависимости от фенотипа (Me, C₂₅-C₇₅, p_{m-u})
 Table 1. Immunological parameters in patients with chronic rhinosinusitis depending on the phenotype (Me, C₂₅-C₇₅, p_{m-u})

Показатели Indicators	Контрольная группа Control group N = 30 (1)		Аллергический ХРС Allergic CR N = 13 (2)		Полипозный ХРС Polyposid CR N = 10 (3)		Инфекционный ХРС Infectious CR N = 54 (4)		Гиперпластический ХРС Hyperplastic CR N = 14 (5)	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Лейкоциты, x 10 ⁹ /л Leukocytes, x 10 ⁹ /l	5,73	4,85-7,75	6,78	5,8-8,3	5,3	4,4-6,2	7,4	3,5-10,6	7,2	3,3-11,1
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	31,0	29,8-45,0	43,0	34,0-46,1	30	22-43	29,2	19,3-49,4	28,1	20,3-47,6
Лимфоциты, x 10 ⁹ /л Lymphocytes, x 10 ⁹ /l	1,78	1,61-2,83	2,9	1,9-3,82	1,9	1,3-2,6	1,8	1,4-3,5	1,9	1,3-3,9
CD3 ⁺ , %	67,0	60,0-72,0	63,1	56,2-70,3	63,5	80,6-56,6	62,3	54,3-69,7	63,1	54,1-68,4
CD3 ⁺ , x 10 ⁹ /л CD3 ⁺ , x 10 ⁹ /l	1,19	1,01-1,88	1,68	1,07-2,79	0,9	0,6-1,4	1,6	0,6-1,8	1,3	0,8-1,6
CD4 ⁺ , %	44,0	34,0-49,0	35,2	29,3-40,3	37,1	56,4-29,5	34,2	30,9-41,5	39,4	29,5-42,1
CD4 ⁺ , x 10 ⁹ /л CD4 ⁺ , x 10 ⁹ /l	0,78	0,55-1,27	0,9	0,57-2,79	0,63	0,4-0,9	1,01	0,3-1,4	1,9	1,2-2,4
CD8 ⁺ , %	27,0	20,0-34,0	28,1	23,5-32,5	24,2	42,4-21,3	27,1	22,3-30,6	25,7	22,7-31,2
CD8 ⁺ , x 10 ⁹ /л CD8 ⁺ , x 10 ⁹ /l	0,48	0,38-0,89	0,82	0,48-1,4	0,47	0,3-0,8	0,5	0,2-0,8	0,38	0,33-0,72
CD16 ⁺ , %	21,2	15,4-28,5	20,1	15,4-24,6	16,8	34,5-14,3	20,3	14,5-24,2	20,2	13,9-25,5
CD16 ⁺ , x 10 ⁹ /л CD16 ⁺ , x 10 ⁹ /l	0,36	0,31-0,60	0,5	0,3-0,97	0,4	0,2-0,6	0,4	0,2-0,8	0,5	0,3-0,9
CD19 ⁺ , %	13,5	9-16	18,4	12,5-21,5	17,4	12,2-20,8	18,1	14,1-22,6	18,6	16,7-22,3
CD19 ⁺ , x 10 ⁹ /л CD19 ⁺ , x 10 ⁹ /l	0,27	0,18-0,38	0,4	0,23-0,56	0,36	0,2-0,49	0,4	0,29-0,6	0,5	0,4-0,63

Примечание. Статистически значимые различия: p₁₋₂ — между группой больных аллергическим ХРС и контрольной группой; p₁₋₃ — между группой больных хроническим ХРС и контрольной группой; p₁₋₄ — между группой больных инфекционным ХРС и контрольной группой; p₁₋₅ — между группой больных гиперпластическим ХРС и контрольной группой; p₂₋₃ — между группами больных гиперпластическим ХРС и контрольной группой; p₂₋₄ — между группами больных гиперпластическим ХРС и контрольной группой; p₂₋₅ — между группами больных гиперпластическим ХРС и контрольной группой; p₃₋₄ — между группами больных гиперпластическим ХРС и контрольной группой; p₃₋₅ — между группами больных гиперпластическим ХРС и контрольной группой; p₄₋₅ — между группами больных гиперпластическим ХРС и контрольной группой; p₁₋₂ = 0,03; p₁₋₃ = 0,03; p₁₋₄ = 0,03; p₁₋₅ = 0,03; p₂₋₃ = 0,001; p₂₋₄ = 0,001; p₂₋₅ = 0,001; p₃₋₄ = 0,001; p₃₋₅ = 0,001; p₄₋₅ = 0,001; p₂₋₅ = 0,04.

Note. Statistically significant differences: p₁₋₂ — between the group of patients with allergic CR and the control group; p₁₋₃ — between the group of patients with polyposis CR and the control group; p₁₋₄ — between the group of patients with infectious CR and the control group; p₁₋₅ — between the group of patients with hyperplastic CR and the control group; p₂₋₃ — between allergic and polyposis CR patient groups; p₂₋₄ — between allergic and infectious CR patient groups; p₂₋₅ — between allergic and hyperplastic CR patient groups; p₃₋₄ — between polyposis and infectious CR patient groups; p₃₋₅ — between polyposis and hyperplastic CR patient groups; p₄₋₅ — between infectious and hyperplastic CR patient groups.

значимость различий определяли с использованием рангового критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным $p < 0,05$.

Результаты

Клеточное звено иммунитета является одним из важнейших компонентов защиты организма. Нами было получено повышение абсолютного количества $CD4^+$ -клеток у пациентов с гиперпластическим ХРС относительно всех исследуемых групп ($p_{1-5} = 0,034$, $p_{2-5} = 0,04$, $p_{3-5} = 0,045$, $p_{4-5} = 0,02$) (табл. 1). При исследовании $CD8^+$ -клеток было обнаружено повышение содержания данных клеток у пациентов с аллергическим ХРС по сравнению с контрольной группой ($p_{1-2} = 0,04$). Абсолютное содержание $CD19^+$ -клеток было повышено во всех исследуемых группах относительно контрольной группы ($p_{1-2} = 0,03$, $p_{1-3} = 0,03$, $p_{1-4} = 0,03$, $p_{1-5} = 0,03$).

У пациентов с аллергическим ХРС происходило повышение концентрации IgE по сравнению с контрольной группой ($p_{1-2} < 0,001$) (табл. 2). Кроме того, концентрация данного иммуноглобулина повышалась у пациентов с полипозным ХРС относительно контрольной

группы ($p_{1-3} < 0,001$). Во всех группах пациентов отмечалось снижение относительного синтеза IgA по сравнению с контрольной группой ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$).

При исследовании относительного синтеза IgM было выявлено снижение данного показателя у пациентов с аллергическим хроническим риносинуситом относительно всех исследуемых и контрольной групп ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,001$, $p_{2-4} < 0,001$, $p_{2-5} < 0,001$). Во всех группах пациентов происходило снижение относительного синтеза IgG относительно контрольной группы ($p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} = 0,03$, $p_{1-5} = 0,03$).

Обсуждение

Общим изменением клеточного звена иммунитета для всех фенотипов ХРС является увеличение абсолютного количества В-лимфоцитов. В период аллергических заболеваний увеличивается количество В-лимфоцитов, что приводит к активной экспрессии рецепторов для гистамина. Под воздействием этих лимфоцитов происходит перекрестное реагирование между антигеном и рецептором к компоненту комплемента (CR2), что возможно благодаря достаточному количеству антител в крови и способности антигена активировать компли-

Таблица 2. Изменение концентрации иммуноглобулинов у больных хроническим риносинуситом в зависимости от фенотипа (Me, $C_{25}-C_{75}$, p_{m-u})

Table 2. Changes in the concentration of immunoglobulins in patients with chronic rhinosinusitis depending on the phenotype (Me, $C_{25}-C_{75}$, p_{m-u})

Показатели Indicators	Контрольная группа Control group N = 30 (1)		Аллергический ХРС Allergic CR N = 13 (2)		Полипозный ХРС Polypoid CR N = 10 (3)		Инфекционный ХРС Infectious CR N = 54 (4)		Гиперпластический ХРС Hyperplastic CR N = 14 (5)	
	Me	$C_{25}-C_{75}$	Me	$C_{25}-C_{75}$	Me	$C_{25}-C_{75}$	Me	$C_{25}-C_{75}$	Me	$C_{25}-C_{75}$
IgA, г/л g/l	1,91	1,33–3,20	1,8	0,9–2,9	2,7	1,3–3,6	1,8	1,1–3,4	1,7	1,2–3,1
IgM, г/л g/l	1,20	0,50–1,80	1,1	0,8–1,3	1,6	1,1–2,1	1,3	1,1–1,9	1,7	1,4–2,2
IgG, г/л g/l	10,30	8,18–14,12	9,6	3,4–12,7	13,1	8,8–16,2	10,4	7,2–14,4	8,1	6,7–12,2
IgE, МЕ/мл IgE, IU/ml	67,4	35,2–97,6	116,4	44,4–263,2	101,1	34,3–240,6	64,1	22,4–138,9	82,1	71,4–167,6
			$p_{1-2} < 0,001$		$p_{1-3} < 0,001$					
IgA/CD19 ⁺	7,38	7,07–8,2	4,9	3,9–7,03	5,1	3,7–6,8	5,4	3–6,2	4,5	3,6–7,1
			$p_{1-2} = 0,03$		$p_{1-3} = 0,03$		$p_{1-3} = 0,04$		$p_{1-4} = 0,04$	
IgM/CD19 ⁺	4,4	2,7–4,61	1,9	0,8–3,6	3,9	3,8–6,6	4,01	3,3–4,2	4,8	4,3–5,5
			$p_{1-2} = 0,03$							
IgG/CD19 ⁺	42,9	36,2–45,4	10,3	7,21–26,6	14,33	14,21–26,6	28,7	25,3–35,3	29,3	27–39
			$p_{1-2} < 0,001$		$p_{1-3} < 0,001$		$p_{1-4} = 0,01$		$p_{1-5} = 0,01$	

Примечание. Статистически значимые различия: p_{1-2} — между группой больных аллергическим ХРС и контрольной группой; p_{1-3} — между группой больных полипозным ХРС и контрольной группой; p_{1-4} — между группой больных инфекционным ХРС и контрольной группой; p_{1-5} — между группой больных гиперпластическим ХРС и контрольной группой; p_{2-3} — между группами больных аллергическим и полипозным ХРС; p_{2-4} — между группами больных аллергическим и инфекционным ХРС; p_{2-5} — между группами больных аллергическим и гиперпластическим ХРС; p_{3-4} — между группами больных полипозным и инфекционным ХРС; p_{3-5} — между группами больных полипозным и гиперпластическим ХРС; p_{4-5} — между группами больных инфекционным и гиперпластическим ХРС.

Note. Statistically significant differences: p_{1-2} — between the group of patients with allergic CR and the control group; p_{1-3} — between the group of patients with polyposis CR and the control group; p_{1-4} — between the group of patients with infectious CR and the control group; p_{1-5} — between the group of patients with hyperplastic CR and the control group; p_{2-3} — between allergic and polyposis CR patient groups; p_{2-4} — between allergic and infectious CR patient groups; p_{2-5} — between allergic and hyperplastic CR patient groups; p_{3-4} — between polyposis and infectious CR patient groups; p_{3-5} — between polyposis and hyperplastic CR patient groups; p_{4-5} — between infectious and hyperplastic CR patient groups.

мент альтернативным способом. Проявление аллергии сопровождается высоким уровнем спонтанной трансформации В-лимфоцитов и преобладанием плазмочитарной реакции. Это приводит к интенсивному изменению синтеза иммуноглобулина Е, а также экспрессии маркеров активации. Под воздействием цитокинов в костном мозге происходит созревание В-лимфоцитов и регуляция их активности.

Таким образом, при atopических аллергиях наблюдается преждевременная трансформация В-лимфоцитов в плазматические клетки. Увеличение количества CD19⁺ и CD25⁺ В-лимфоцитов происходит таким образом, что это может свидетельствовать о преактивированном состоянии клеток, которые играют важнейшую роль в развитии atopических аллергических заболеваний.

При риносинусите наблюдается активное размножение аутореактивных Т- и В-лимфоцитов, сопровождающееся ростом числа В-клеток, которые производят иммуноглобулины, нацеленные на аэроаллергены и другие чужеродные вещества. Это способствует поддержанию хронического воспаления, характерного для данного типа заболевания [13].

Особенностью хронического аллергического риносинусита было повышение общего числа цитотоксических лимфоцитов. При активации CD8⁺ лимфоцитов высвобождаются цитотоксические молекулы, такие как гранзим В и порфорин, способные инициировать и усугублять воспаление в слизистой оболочке носа, нарушая физиологическую активность клеток и тканей. Медиаторы могут инициировать апоптотический путь, вызывая гибель клеток или их повреждение. Таким образом может быть нарушена барьерная функция эпителия [7].

Фенотипическими особенностями гуморального иммунитета были гипергаммаглобулинемия по классу Е при хроническом аллергическом и полипозном риносинуситах. Одним из важнейших иммуноглобулинов, играющим основную роль в иммунитете полости носа, является IgЕ. Он является основным иммуноглобулином, отвечающим за аллергический иммунный ответ, а также играет роль в патогенезе

незе аллергического риносинусита. Хотя IgЕ-продуцирующие плазмочиты не являются нормальным компонентом слизистой носа, у пациентов с аллергическим риносинуситом повышен уровень аллерген-специфического IgЕ в тканях. Это является доказательством того, что проникающий в слизистую пациентов с аллергией IgЕ синтезируется на месте, а не мигрирует из отдаленных источников. Существуют исследования в которых наблюдалась смена класса иммуноглобулинов в тканях полости носа, например в эксперименте *ex vivo* продемонстрировали вызванную аллергеном смену класса в тканях носовых раковин.

Исследователи также показали повышение уровня антигенспецифического IgЕ у пациентов с риносинуситом, имеющих отрицательные результаты тестирования на аллергены. На основании отрицательных системных тестов было высказано предположение, что местный аллергический ответ может быть инициирующим фактором у пациентов с предшествующим диагнозом неаллергического риносинусита.

В нашем исследовании были выявлены изменения в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета при ХРС в различных фенотипах заболевания: при хроническом аллергическом риносинусите — 5; при хроническом полипозном риносинусите — 4; при хроническом инфекционном риносинусите — 3; при хроническом гиперпластическом риносинусите — 4. При аллергическом ХРС выявлялись изменения в виде увеличения абсолютного содержания В-лимфоцитов, гипергаммаглобулинемия Е (более 100 МЕ/мл) и снижение 3 индексов относительного синтеза. При полипозном ХРС обнаружено увеличение абсолютного содержания В-лимфоцитов, гипергаммаглобулинемия Е и снижение 2 индексов относительного синтеза. При инфекционном ХРС выявлялось увеличение содержания В-лимфоцитов и снижение 2 индексов относительного синтеза. При гиперпластическом ХРС имелось увеличение абсолютного содержания Т-хелперов, В-лимфоцитов и снижение абсолютного числа цитотоксических Т-лимфоцитов и 2 индексов относительного синтеза.

Список литературы/References

1. Егоров В.И., Савлевич Е.Л. Место врожденного иммунитета в развитии хронического риносинусита и перспективы тактики консервативного лечения // Альманах клинической медицины. 2016. Т. 44, № 7. С. 850–856. [Egorov V.I., Savlevich E.L. The role of innate immunity in the development of chronic rhinosinusitis and perspectives of its conservative management. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny = Almanac of Clinical Medicine*, 2016, vol. 44, no. 7, pp. 850–856. (In Russ.)] doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-7-850-856
2. Захарова Г.П. Характеристика ультраструктурных особенностей слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи при хроническом риносинусите // Новости оториноларингологии и логопатологии. 2002. Т. 3. С. 25–29. [Zaharova G.P. Characterisation of ultrastructural features of the maxillary sinus mucosa in chronic rhinosinusitis. *Novosti otorinolaringologii i logopatologii = Otorhinolaryngology and Speech Pathology News*, 2002, vol. 3, pp. 25–29. (In Russ.)]

3. Крюков А.И., Студеный М.Е., Артемьев М.Е., Чумаков П.Л., Рынков Д.А., Горин Д.С. Лечение пациентов с риносинуситами: возможности консервативного и оперативного воздействия // Медицинский совет. 2012. Т. 11. С. 92–96. [Kryukov A.I., Studenyj M.E., Artem'ev M.E., Chumakov P.L., Rynkov D.A., Gorin D.S. Treatment of patients with rhinosinusitis: conservative and surgical options. *Meditinskij sovet = Medical Council*, 2012, vol. 11, pp. 92–96. (In Russ.)]
4. Шадыев Т.Х., Изотова Г.Н., Сединкин А.А. Острый синусит // Русский медицинский журнал. 2013. Т. 11. С. 567–574 [Shadyev T.H., Izotova G.N., Sedinkin A.A. Acute sinusitis. *Russkii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal*, 2013, vol. 11, pp. 567–574. (In Russ.)]
5. Anand V.K. Epidemiology and economic impact of rhinosinusitis. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. Suppl.*, 2004, vol. 193, pp. 3–5. doi: 10.1177/00034894041130s502
6. Benninger M.S., Ferguson B.J., Hadley J.A., Hamilos D.L., Jacobs M., Kennedy D.W., Lanza D.C., Marple B.F., Osguthorpe J.D., Stankiewicz J.A., Anon J., Denneny J., Emanuel I., Levine H. Adult chronic rhinosinusitis: definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2003, vol. 129 (3 Suppl), pp. S1–S32. doi: 10.1016/s0194-5998(03)01397-4
7. Epple H.J., Allers K., Tröger H., Kühl A., Erben U., Fromm M., Zeitz M., Loddenkemper C., Schulzke J.D., Schneider T. Acute HIV infection induces mucosal infiltration with CD4⁺ and CD8⁺ T cells, epithelial apoptosis, and a mucosal barrier defect. *Gastroenterology*, 2010, vol. 139, no. 4, pp. 1289–1300. doi: 10.1053/j.gastro.2010.06.065
8. Fokkens W.J., Lund V.J., Mullol J., Bachert C., Alobid I., Baroody F., Cohen N., Cervin A., Douglas R., Gevaert P., Georgalas C., Goossens H., Harvey R., Hellings P., Hopkins C., Jones N., Joos G., Kalogjera L., Kern B., Kowalski M., Price D., Riechelmann H., Schlosser R., Senior B., Thomas M., Toskala E., Voegels R., Wang de Y., Wormald P.J. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinology*, 2012, vol. 50, no. 1, pp. 1–12. doi: 10.4193/Rhino12.000
9. Johnson J.T., Yu V.L. Infection diseases and antimicrobial therapy of the ears, nose and throat. *Philadelphia US: Saunders*, 1997. 641 p.
10. Lee J.T., Kennedy D.W., Palmer J.N., Feldman M., Chiu. A.G. The incidence of concurrent osteitis in patients with chronic rhinosinusitis: a clinicopathological study. *Am. J. Rhinol.*, 2006, vol. 20, no. 3, pp. 278–282. doi: 10.2500/ajr.2006.20.2857
11. Ooi E.H., Wormald P.J., Tan L.W. Innate immunity in the paranasal sinuses: a review of nasal host defenses. *Am. J. Rhinol.*, 2008, vol. 22, no. 1, pp. 13–19. doi: 10.2500/ajr.2008.22.3127
12. Pankey G.A., Gross C.W., Mendelson M.G. Contemporary diagnosis and management of sinusitis. *Pennsylvania: Handbooks in Health Care Company*, 1997. 160 p.
13. Tan B.K., Li Q.Z., Suh L., Kato A., Conley D.B., Chandra R.K., Zhou J., Norton J., Carter R., Hinchcliff M., Harris K., Peters A., Grammer L.C., Kern R.C., Mohan C., Schleimer R.P. Evidence for intranasal antinuclear autoantibodies in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, vol. 128, no. 6, pp. 1198–1206. doi: 10.1016/j.jaci.2011.08.037
14. Van Crombruggen K., Zhang N., Gevaert P., Tomassen P., Bachert C. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, vol. 128, no. 4, pp. 728–732. doi: 10.1016/j.jaci.2011.07.049

Авторы:

Смирнова О.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией клинической патофизиологии ФГБНУ ФИЦ Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;

Синяков А.А., к.б.н., старший 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., DSc (Medicine), 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;

Sinyakov A.A., PhD (Biology), 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.

Поступила в редакцию 08.07.2024
Принята к печати 13.08.2024

Received 08.07.2024
Accepted 13.08.2024

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ В г. РОСТОВЕ-НА-ДОНУ В 2021–2023 гг.

В.А. Рыкова, О.Н. Подладчикова, А.С. Анисимова, Н.В. Аронова, А.С. Водопьянов,
С.Ю. Темякова, Е.Н. Гудуева

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. Введение. В статье представлено исследование 33 штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в Ростове-на-Дону в 2021–2023 гг. от пациентов с внебольничной пневмонией. Штаммы были проанализированы в соответствии с признаками, которые, как известно, связаны с гипервирулентностью. Проведено сравнение штаммов по фенотипическим (сидерофорная активность, гипермукоидность, чувствительность к бактериофагу) и генотипическим (плазмидный профиль, наличие генов сидерофоров и *rmpA* и *rmpA2*) свойствам. **Материалы и методы.** При проведении исследования были использованы следующие методы: определение чувствительности к бактериофагу, гипермукоидности с помощью «стринг-теста», сидерофорной активности на среде, содержащей хромазуrol S, содержания плазмид и полногеномное секвенирование. **Результаты.** Секвенирование 11 штаммов, различающихся по мукоидности, показало, что все гипермукоидные штаммы содержали *rmpA*, в то время как *rmpA2* либо отсутствовал, либо содержал одиночные инсерции или делеции нуклеотидов, что приводило к сдвигу рамки считывания. Те же мутации в гене *rmpA2* наблюдались у немучоидных штаммов, у них отсутствовал *rmpA*. Штаммы отличались по набору из четырех сидерофорных кластеров, количество которых не коррелировало с сидерофорной активностью. Отсутствие у штаммов, не обладающих гипермукоидностью, *rmpA* и генов биосинтеза салмохелина при сохранении гена его рецептора указывает на наличие делеций, приводящих к потере гипермукоидности. Исследование 33 штаммов показало, что они способны диссоциировать, образуя колонии двух типов: темные и светлые, которые наблюдались как у гипермукоидных, так и у немучоидных штаммов. Темные клоны гипермукоидных штаммов это свойство сохраняли, в то время как светлые клоны его утрачивали. Оба варианта немучоидных штаммов сохраняли свойство немучоидности. Анализ разных 17 штаммов показал, что их темные клоны обладали сниженной сидерофорной активностью и чувствительностью к бактериофагу по сравнению со светлыми. Геномы разных клонов не отличались по сидерофорным кластерам, но *rmpA* был обнаружен только в темных клонах гипермукоидных штаммов. У немучоидных штаммов этот ген отсутствовал в обоих клонах, в то время как различия в сидерофорной активности и чувствительности к бактериофагу сохранялись. **Заключение.** Гипермукоидность

Адрес для переписки:

Рыкова Виолетта Александровна
344002, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, 117/40,
ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт
Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (863) 240-91-22. Факс: 8 (863) 267-02-23.
E-mail: violletryk@gmail.com

Contacts:

Violetta A. Rykova
344002, Russian Federation, Rostov-on-Don,
Maxim Gorky str., 117/40, Rostov-on-Don Anti-Plague
Institute of Rosпотребнадзор.
Phone: +7 (863) 240-91-22. Fax: +7 (863) 267-02-23.
E-mail: violletryk@gmail.com

Для цитирования:

Рыкова В.А., Подладчикова О.Н., Анисимова А.С., Аронова Н.В.,
Водопьянов А.С., Темякова С.Ю., Гудуева Е.Н. Фенотипический
и генетический анализ штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных
от больных внебольничной пневмонией в г. Ростове-на-Дону в 2021–
2023 гг. // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1104–1116.
doi: 10.15789/2220-7619-PAG-17627

Citation:

Rykova V.A., Podladchikova O.N., Anisimova A.S., Aronova N.V.,
Vodopyanov A.S., Temyakova S.Yu., Gudueva E.N. Phenotypic and genetic
analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from community-acquired
pneumonia patients in Rostov-on-Don in 2021–2023 // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6,
pp. 1104–1116. doi: 10.15789/2220-7619-PAG-17627

K. pneumoniae связана с наличием *rmpA*, в то время как *rmpA2* не является обязательным. Различия клонов по морфологии колоний, сидерофорной активности и чувствительности к бактериофагу не связаны с *rmpA/rmpA2*, а скорее обусловлены пока неизвестным механизмом.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, сидерофорная активность, плазмиды, гипермукоидный фенотип, фагочувствительность, полногеномное секвенирование.

PHENOTYPIC AND GENETIC ANALYSIS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS ISOLATED FROM COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA PATIENTS IN ROSTOV-ON-DON IN 2021–2023

Rykova V.A., Podladchikova O.N., Anisimova A.S., Aronova N.V., Vodopyanov A.S., Temyakova S.Yu., Gudueva E.N.
Rostov-on-Don Scientific Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. Introduction. Here, we present a study of 33 *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in Rostov-on-Don in 2021–2023 from patients with community-acquired pneumonia. The bacterial strains were analyzed according to the traits known to be linked to hypervirulence. The aim of the study was to compare of the strains by analyzing phenotypic (siderophore activity, hypermucoviscosity, bacteriophage sensitivity) and genotypic (presence of plasmids, siderophore genes, and *rmpA* and *rmpA2* genes) properties. **Materials and methods.** Assessment of bacteriophage sensitivity, hypermucoviscosity using “string test”, siderophore activity on chrome azurol S containing plates, high-molecular weight plasmids content, and whole-genome sequencing. **Results.** Sequencing of 11 strains differing in mucoviscosity allowed to establish that all hypermucoviscous strains contained the *rmpA* gene, whereas the *rmpA2* gene was either absent or contained single nucleotide insertions or deletions, leading to a reading frame shift. The same mutations in *rmpA2* were observed in non-mucoviscous strains, all of which lacked the *rmpA* gene. The strains differed by the presence of four siderophore clusters, the number of which did not correlate with the siderophore activity. The lack of *rmpA* and salmochelin biosynthesis genes but presence of its receptor gene in the non-mucoviscous strains suggest that they have deletions, leading to the loss of the hypermucoviscous phenotype. A study of 33 strains showed that they were able to dissociate, forming dark and light colonies, which were observed in both hypermucoviscous and non-hypermucoviscous strains. In dark but not light clones obtained from hypermucoviscous strains, this property was preserved. In contrast, both clone variants of non-hypermucoviscous strains retained this property. An analysis of different clones of 17 strains showed that dark vs light clones had reduced siderophore activity and bacteriophage sensitivity. The clone genomes did not differ in the siderophore clusters, but *rmpA* was revealed only in the dark clones of hypermucoviscous strains. In non-mucoviscous strains, this gene was not found in both clones, whereas differences in siderophore activity and bacteriophage sensitivity were preserved. **Conclusion.** *K. pneumoniae* hypermucoviscosity phenotype is associated with the presence of at least the *rmpA*, while intact *rmpA2* is not required. The differences in the colony morphology, clone siderophore activity, and bacteriophage sensitivity are not related to *rmpA* and *rmpA2*, but rather result from an unknown yet mechanism.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, siderophore activity, plasmids, hypermucoviscosity, phage sensitivity, whole-genome sequencing.

Введение

Бактерии *Klebsiella pneumoniae* широко распространены в окружающей среде, а также являются компонентом нормофлоры человека. При этом *K. pneumoniae* способна вызывать заболевания различной тяжести как у иммунокомпromетированных, так и иммунокомпетентных лиц. Штаммы *K. pneumoniae* обладают широким спектром факторов патогенности и множественной лекарственной устойчивостью и представляют значительную опасность для здравоохранения. Поэтому вид *K. pneumoniae* включен в группу ESKAPE-патогенов (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* sp.) и является предметом детального изучения для разработки новых методов диагностики и лечения больных [7].

Представители вида *K. pneumoniae* неоднородны по свойствам и в настоящее время раз-

делены на два патотипа штаммов: классические (сКр) и гипервирулентные (hvКр) [8]. Глобально распространенные штаммы сКр являются возбудителями нозокомиальных инфекций и часто демонстрируют резистентность к антибиотикам. Штаммы hvКр, которые в мире появились относительно недавно (в 1980-х гг.), способны вызвать внебольничные инфекции и изначально сохраняли чувствительность к большинству антибиотиков. Однако в последнее время распространились штаммы, у которых гипервирулентность и антибиотикорезистентность сосуществуют [1]. Это явление может формироваться за счет приобретения hvКр штаммами плазмид с генами резистентности к антибиотикам, а также за счет приобретения антибиотикорезистентными сКр штаммами плазмид, несущих гены факторов вирулентности.

Факторы вирулентности *K. pneumoniae* можно разделить на две большие группы. Одни факторы кодируются хромосомными генами

и присутствуют у всех представителей вида (К- и О-антигены, фимбрии, система секреции б типа, сидерофор энтеробактин). К этой же группе относится и сидерофор иерсиниабактин, гены биосинтеза и транспорта которого находятся в составе конъюгативного интегративного элемента ICEKp, встраивающегося в хромосому в сайтах аспарагиновой tPHK [28]. Установлено, что способность продуцировать этот сидерофор, который встречается у отдельных штаммов клебсиелл, важна для проявления ими патогенных свойств [19].

Другая группа факторов (повышенная продукция капсулы, синтез дополнительных сидерофоров, таких как сальмохелин и аэробактин) выявляется преимущественно у штаммов hvKp. Известно, что повышенная продукция капсулы, как правило, приводит к гипермукоидности штаммов, которая является одним из признаков, коррелирующих с гипервирулентностью *K. pneumoniae*. Капсула кодируется хромосомными генами (*cps*), которые активируются продуктами плазмидных генов *rmpA* и *rmpA2*. Эти гены расположены на характерных для hvKp высокомолекулярных плаزمидах [15], таких как PLVPK (224 т.п.н.) и pK2044 (219 т.п.н.). На этих же плазмидах находятся гены, кодирующие аэробактин и сальмохелин [9, 18, 32]. Наличие у исследуемых штаммов вышеупомянутых генов, которое указывает на присутствие в штаммах плазмид вирулентности, предложено использовать в качестве генетических маркеров hvKp [25].

Из четырех продуцируемых клебсиеллами сидерофоров (энтеробактин, иерсиниабактин, сальмохелин и аэробактин) наиболее важными для проявления патогенных свойств являются аэробактин и сальмохелин. Энтеробактин синтезируется всеми штаммами, однако его эффективность в организме хозяина невысока, так как он инактивируется белком иммунной системы липокалином-2. Устойчивый к липокалину иерсиниабактин встречается как у cKp, так и у hvKp. Для последних особенно характерны два других сидерофора — сальмохелин и аэробактин, которые также не инактивируются липокалином-2. Наличие у штаммов hvKp дополнительных генов, кодирующих биосинтез сидерофоров, предполагает наличие у них способности продуцировать эти хелаторы железа в больших количествах. И действительно, исследования разных штаммов клебсиелл показали, что hvKp продуцируют в 8–10 раз больше сидерофоров, чем cKp штаммы [24, 25]. На основе этих наблюдений авторы предложили количественный метод для определения сидерофорной активности штаммов по росту на индикаторной среде (CAS-агаре), который предлагали использовать для быстрой дифференциации hvKp от cKp.

Гиперпродукция капсулы и сидерофоров способствует проявлению hvKp высокоинвазивных свойств. Капсула способствует ускользанию бактерий от действия иммунной системы хозяина, а продукция нескольких типов сидерофоров обеспечивает доступ к разным источникам железа. Помимо участия в ассимиляции железа, сидерофоры *K. pneumoniae* повреждают ткани хозяина, индуцируют выработку цитокинов, стабилизируют транскрипционный фактор HIF-1a и способствуют диссеминации бактерий [13, 23].

Исходя из общепринятых представлений о взаимосвязи продукции сидерофоров с другими свойствами, определяющими гипервирулентный фенотип клебсиелл, мы попытались выявить эту связь у клинических штаммов *K. pneumoniae*. Цель работы: сравнительный анализ штаммов *K. pneumoniae* по фенотипическим (сидерофорная активность, гипермукоидный фенотип и чувствительность к клебсиеллезному бактериофагу) и генотипическим (наличие автономных плазмидных репликаонов, генов сидерофорных кластеров и регуляторов мукоидного фенотипа) свойствам.

Материалы и методы

Штаммы, использованные в работе, были выделены из мокроты больных внебольничными пневмониями в лечебных учреждениях г. Ростова-на-Дону в 2021–2023 гг. В работе проанализированы 33 штамма *K. pneumoniae*. Штаммы выращивали на мясо-пептонном агаре (МПА) при 37°C в течение 18–24 ч. Видовую принадлежность выделенных культур подтверждали с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS). Масс-спектры, полученные при использовании масс-спектрометра Autoflex speedIII (Bruker Daltonics, Германия), анализировали с помощью программного обеспечения MALDI Biotyper и сравнивали с базой данных компании Bruker версии 3.1.66 (Bruker Daltonics, Германия). Образцы для масс-спектрометрии готовили в соответствии с методическими указаниями [5, 6].

Изучение спектра чувствительности исследуемых штаммов к коммерческому клебсиеллезному поливалентному бактериофагу, представляющему собой очищенный фильтрат фаголизатов бактерий *K. pneumoniae* (сер. У05, НПО «Микроген», Россия), проводили методом нанесения капли различных разведений (до 10^{-3}) бактериофага на посев исследуемой культуры (10^8 КОЕ/мл) согласно Федеральным клиническим рекомендациям «Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противозидемической практике» (Москва, 2022 г.).

Гипермукоидный фенотип штаммов определяли с помощью «стринг-теста» [11] при использовании суточной культуры бактерий, выращенных на коммерческом кровяном агаре с 5% бараньих эритроцитов (агар колумбийский с содержанием бараньей крови, номер партии 1477, ООО «Средофф», Россия). Тест считали положительным, если за петлей тянулся слизистый тяж более 5 мм от поверхности агара.

Выявление автономных плазмидных репликонов проводили с помощью анализа тотальной клеточной ДНК штаммов методом, предложенным С.И. Кадо и С.Т. Лиу [16]. Для этого культуры выращивали на МПА при 37°C в течение 18–24 ч. Клетки суспендировали в лизис-буфере, содержащем 50 мМ Трис-ОН (рН 12,45), 10 мМ ЭДТА и 3% SDS, и выдерживали 30 мин при 65°C. После добавления смеси фенол:хлороформ (1:1) водную фазу отделяли центрифугированием и подвергали электрофорезу в 0,7%-ном агарозном геле при 50 мА в течение 2,5 ч. Гели окрашивали бромидом этидия (Serva).

Сидерофорную активность использованных в работе штаммов *K. pneumoniae* определяли на индикаторной среде [27], содержащей хромогенный хелатор железа хромазуrol S (CAS). Этот реактив при 30%-ном насыщении железом имеет сине-зеленую окраску, а после удаления из него железа сидерофорами, выделяемыми в среду бактериями, CAS-реактив окрашивается в желтый цвет. Перед посевом на индикаторную среду штаммы клебсиелл выращивали при 37°C на МПА в течение 24 ч, культуры суспендировали в стерильной дистиллированной воде до плотности 10⁹ м.к./мл. По 10 мкл суспензий бактерий наносили на CAS-агар в виде капли, и посева инкубировали при 37°C в течение 24 ч.

Секвенирование штаммов клебсиелл было проведено методом высокопроизводительного секвенирования при использовании технологической платформы MiSeq (Illumina, www.illumina.com). Хромосомная ДНК для секвенирования была выделена с помощью набора для выделения ДНК — «НК» (ДНК-технология, Москва, Россия) согласно инструкции по применению набора. В реакции использовали 20 нг ДНК каждого из исследованных штаммов. Библиотеки готовили с помощью коммерческого набора Nextera DNA Library Preparation Kit (Illumina) согласно прилагаемой инструкции. Для секвенирования полученных библиотек использовали набор картриджей MiSeq v.2 Reagents Kit 300 Cycles PE (Illumina). Результаты секвенирования были представлены в виде набора контигов, содержащих текстовые файлы двух типов (fasta и fastaQ). Геномы анализировали с помощью авторской программы ContigSearcher [3], позволяющей проводить поиск конкретных по-

следовательностей ДНК в контигах. Для поиска генов регуляторов мукоидного фенотипа использовали последовательности *rmpA* и *rmpA2* из базы данных NCBI. Анализ генов, отвечающих за продукцию клебсиеллами сидерофоров, проводили с использованием компьютерной программы SiderophoreAnalyzer [4]. Эта программа позволяет выявлять гены биосинтеза и рецепторов четырех сидерофоров: энтеробактина — Ent (*entB* и *sepA*), иерсиниабактина Ybt (*irp2* и *fyuA*), сальмохелина — Sch (*iroB* и *iroN*) и аэробактина — Abt (*iucA* и *iutA*).

Результаты

Характеристика использованных в работе штаммов *K. pneumoniae*

Сравнительный анализ 33 штаммов *K. pneumoniae* (табл. 1), выделенных от больных внебольничными пневмониями в лечебных учреждениях г. Ростова-на-Дону в 2021–2023 гг., был проведен по следующим признакам: наличие сидерофорной активности, гипермукоидного фенотипа, автономных плазмидных репликонов и чувствительности к клебсиеллезному бактериофагу.

Определение фагочувствительности клебсиелл показало, что из 33 исследованных штаммов семь (21%) давали нечеткую зону лизиса с вторичным ростом внутри зоны (обозначены «+/-»), 9 штаммов (27%) оказались резистентными к бактериофагу: 3 (33%) относились к hvKp патотипу, а 6 (67%) — к сКр. Из 17 чувствительных к фагу штаммов, демонстрирующих четкую зону лизиса, 14 (82%) были представлены штаммами сКр и только 3 (18%) — hvKp. Полученные данные указывают на преобладание чувствительных к фагу штаммов среди изолятов классического типа. Вероятно, это связано с экранированием рецепторов бактериофага на поверхности бактерий, активно продуцирующих капсульный полисахарид.

Анализ сидерофорной активности исследованных штаммов на индикаторной среде для выявления сидерофоров (CAS-агаре) показал, что штаммы значительно различались по этому свойству (рис. 1, III обложка, табл. 1).

Одни штаммы в условиях эксперимента не проявляли активности (№ 1, 4, 10, 12, 19, 21, 22) или давали небольшую зону просветления CAS-реагента вокруг посева, а другие штаммы (№ 2, 5, 17, 20, 23) выделяли в среду большое количество сидерофоров, что свидетельствовало об их высокой сидерофорной активности. Известно, что высокая продукция сидерофоров характерна для hvKp, обладающих высокой мукоидностью за счет стимуляции синтеза полисахарида белками RmpA и RmpA2, которые кодируются высокомолекулярными плазмидами,

содержащими также гены биосинтеза и транспорта двух сидерофоров (аэробактина и сальмохелина) [9, 18, 32].

Определение мукоидного фенотипа штаммов в стринг-тесте показало, что из 33 штаммов гипермукоидными свойствами обладали 11 (33%) штаммов (табл. 1). При определении сидерофорной активности этих штаммов (рис. 1, III обложка) выяснилось, что высокую активность проявили только 3 штамма (27%), 5 штаммов (46%) об-

ладали слабой активностью, а остальные 3 (27%) не демонстрировали сидерофорной активности. Среди 22 штаммов классического патотипа только 2 (10%) проявляли высокую активность, 16 (72%) были слабо активны и 4 (18%) не обладали сидерофорной активностью. Анализ полученных данных не позволил выявить четкую связь мукоидных свойств штаммов *K. pneumoniae* с их высокой сидерофорной активностью. Для выяснения вопроса, связаны ли различия сидеро-

Таблица 1. Характеристика использованных в работе штаммов *K. pneumoniae*

Table 1. Characteristics of the *K. pneumoniae* strains used in the study

Номер штамма Strain number	Название штамма Strain name	Сидерофорная активность Siderophore activity	Мукоидность Mucoviscosity	Чувствительность к бактериофагу Bacteriophage sensitivity
1	70966	-	-	+
2	72138	+++	-	+
3	72375	++	-	+
4	A3288	-	+	+/-
5	A3975	+++	+	+
6	44712	++	-	+
7	44716 (R)	+	+	+/-
8	45473	+	-	+
9	71704	+	-	-
10	A5237	-	-	-
11	71514	+	-	+
12	43592	-	-	+
13	70622	+	-	+/-
14	71320	+	-	+
15	71505	+	-	+
16	72244	++	-	+
17	A89 (л-)	++++	+	+/-
18	A 106	+	-	-
19	A 708	-	-	-
20	A 3292 (л-)	+++	-	-
21	КТА	-	+	-
22	E 4024	-	+	+/-
23	И 9932	+++	+	+
24	И 9939	++	+	-
25	И 6865	++	+	+
26	И 9537	+	+	-
27	И 7762р	+	-	+
28	44716	+	+	+/-
29	И 7766	+	-	+/-
30	К 203	++	-	-
31	И 7498	+	-	+
32	И 7762кр	+	-	+
33	И 9941	+	-	+

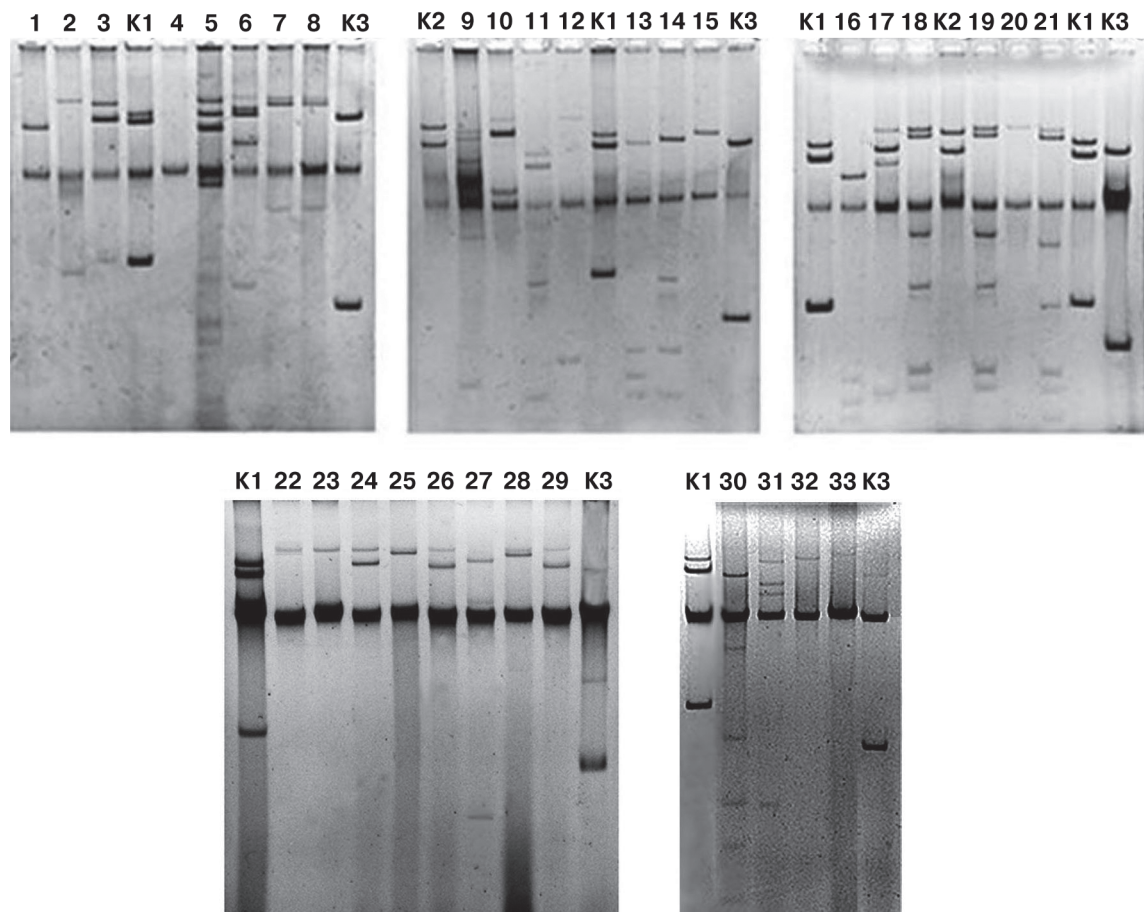


Рисунок 2. Электрофореграмма в 0,7% агарозном геле тотальной клеточной ДНК штаммов *K. pneumoniae*. Контроли: K1 — плазмиды 96,2–70,3–9,6 т.п.н.; K2 — плазмиды 153,1–70,2 т.п.н.; K3 — плазмиды 70,2–6,4 т.п.н.

Figure 2. Electrophoregram in 0.7% agarose gel of total cellular DNA of *K. pneumoniae* strains. Controls: K1 — plasmids 96.2–70.3–9.6 kbp; K2 — plasmids 153.1–70.2 kbp.; K3 — plasmids 70.2–6.4 kbp.

форной активности штаммов с разным набором генетических кластеров, кодирующих сидерофоры, мы использовали два методических подхода: определение плазмидного состава всех исследованных штаммов и полногеномное секвенирование отдельных штаммов.

Определение плазмидного состава исследованных штаммов *K. pneumoniae* методом электрофореза тотальной клеточной ДНК в агарозном геле (рис. 2) показало, что штаммы имели от 1 до 7 плазмид различной молекулярной массы. Известно, что высокомолекулярные плазмидные репликоны клебсиелл несут гены биосинтеза двух дополнительных сидерофоров: сальмохелина и аэробактина. Поэтому наличие у штамма таких репликонов могло бы объяснить их повышенную сидерофорную активность.

Анализ плазмидного состава исследованных нами штаммов показал, что большинство из них содержали высокомолекулярные плазмиды, различающиеся по подвижности в геле (рис. 2). Штаммы, которые обладали максимальной сидерофорной активностью (№ 2, 5,

17, 20, 23), имели в своем составе высокомолекулярные плазмиды, при этом другие штаммы (№ 3, 18, 19, 22, 24, 25, 26), содержащие сходные репликоны, не проявляли высокой активности. Единственный штамм, у которого не обнаружены плазмиды, не обладал сидерофорной активностью (штамм № 4 на рис. 1, 2). Интересно, что этот штамм характеризовался сильно выраженной гипермукоидностью. По литературным данным, этот признак *K. pneumoniae* обусловлен действием транскрипционных активаторов RmpA и RmpA2, гены которых находятся на высокомолекулярных плаزمидах. Возможно, гиперпродукция капсулы штаммом № 4 связана с другими, пока неизвестными, молекулярными механизмами регуляции экспрессии *cps* генов. Полученные данные дают основание для предположения, что сидерофорная активность штаммов, а также свойство гипермукоидности, могут быть связаны не только с генами, локализованными на автономных плазмидных репликонах, но и с хромосомными генами, а также с интегрированными с хромосомой плазмидами.

Таблица 2. Фенотипические и генотипические свойства секвенированных штаммов *K. pneumoniae*Table 2. Phenotypic and genotypic properties of sequenced *K. pneumoniae* strains

Номер штамма Strain number	Название штамма Strain name	Сидер. активность Siderophore activity	Сидерофоры* Siderophores*	Мукоидность Mucoviscosity	Гены регуляторов мукоидности Mucoviscosity regulation genes		Чувств. к бактериофагу Bacteriophage sensitivity
					<i>rmpA</i>	<i>rmpA2</i>	
4	A3288	–	Ent, Ybt, Sch	+	+	–	+/-
22	E 4024	–	Ent, Abt, Sch	+	+	***	+/-
23	И 9932	+++	Ent, Abt, Sch	+	+	***	+
24	И9939	++	Ent, Ybt, Abt, Sch	+	+	+	–
25	И 6865	++	Ent, Ybt, Abt, Sch	+	+	–	+
26	И 9537	+	Ent, Ybt, Abt, Sch	+	+	+	–
27	И 7762 p	+	Ent, Abt, Sch ^R	–	–	***	+
29	И 7766	+	Ent, Abt, Sch ^R	–	–	–	+/-
30	K 203	++	Ent, Ybt, Abt, Sch ^R	–	–	***	–
31	И 7498	+	Ent, Ybt, Abt, Sch ^R	–	–	***	+
33	И 9941	+	Ent, Ybt, Sch ^R	–	–	–	+

Примечание. *Ent, Ybt, Abt, Sch — в геномах содержатся гены биосинтеза и транспорта сидерофоров, Sch^R — в геномах содержатся только гены рецептора сальмохелина; **в гене имеется мутация со сдвигом рамки считывания.

Note. *Ent, Ybt, Abt, Sch — the genomes contain both siderophore biosynthesis and transport genes, Sch^R — the genomes contain salmochelin receptor gene only; **the gene contains frame shift mutation.

Результаты полногеномного секвенирования штаммов позволяли оценить присутствие в них как хромосомных, так и плазмидных генов, кодирующих биосинтез и транспорт сидерофоров, а также генов регуляторов гипермукоидного фенотипа. Для секвенирования были отобраны 11 штаммов, различающихся по фенотипическим свойствам: сидерофорной активности, гипермукоидности и чувствительности в клебсиеллезному бактериофагу (табл. 2).

Поиск генетических детерминантов биосинтеза и транспорта четырех сидерофоров в геномах 11 штаммов клебсиелл показал, что они обладали разным набором генов, отвечающих за синтез и транспорт сидерофоров. Все штаммы содержали гены, кодирующие синтез и транспорт энтеробактина, который, как известно, кодируется хромосомными генами. Разные штаммы содержали дополнительно от одного до трех сидерофорных кластеров. Все пять штаммов, которые не обладали гипермукоидным фенотипом, содержали ген рецептора сальмохелина при отсутствии генов биосинтеза этого сидерофора, что может указывать на частичную делецию сальмохелинового кластера. Три из 11 секвенированных штаммов (№ 24–26) содержали гены всех четырех сидерофорных кластеров, тем не менее, не проявляли высокой сидерофорной активности, но обладали гипермукоидным фенотипом.

Поиск в геномах секвенированных штаммов с помощью компьютерной программы

ContigSearcher [3] генов регуляторов, которые активируют экспрессию гипермукоидного фенотипа (*rmpA* и *rmpA2*), показал, что все 6 мукоидных штаммов имели полноценный ген *rmpA*, в то время как полноценный ген *rmpA2* присутствовал только у двух штаммов (№ 24, 26). Два штамма в этом гене содержали единичные инсерции или делеции нуклеотидов (№ 22, 23), приводящие к сдвигу рамки считывания гена, и у двух штаммов (№ 4, 25) *rmpA2* отсутствовал. Полученные данные позволяют объяснить гипермукоидные свойства бесплазмидного штамма № 4, у которого выявлены плазмидные гены сальмохелина и *rmpA* при отсутствии автономного плазмидного репликона, что подтверждает предположение об интеграции плазмиды (или ее части) с хромосомой.

Мутации в гене *rmpA2* отмечены и у трех (№ 27, 30, 31) из пяти немучоидных штаммов, а у двух штаммов (№ 29, 33) этот ген и вовсе отсутствовал. У всех пяти немучоидных штаммов ген *rmpA* не выявлялся. Необходимость и достаточность присутствия в геномах штаммов *K. pneumoniae* только *rmpA* для проявления мукоидных свойств подтверждается данными анализа геномов штаммов, в которых *rmpA2* отсутствует (№ 4 и 25) или имеет мутацию со сдвигом рамки считывания (№ 22, 23).

Проведенные исследования позволили заключить: сидерофорная активность *K. pneumoniae* не коррелирует с гипермукоидным фенотипом штаммов; для проявления мукоидного феноти-

па штаммов *K. pneumoniae* наличие гена *rmpA2* не обязательно, в то время как утрата гена *rmpA* ведет к потере этого фенотипа; высокомолекулярные плазмиды, несущие гены дополнительных сидерофоров и генов регуляторов *rmpA/rmpA2*, могут интегрироваться с хромосомой. Такая интеграция плазмид с хромосомой свидетельствует о рекомбинационных процессах, приводящих к изменению фенотипических свойств штаммов. И действительно, в процессе характеристики штаммов *K. pneumoniae* было обнаружено, что некоторые из них образуют разные по окраске колонии. Выяснение причин этой гетерогенности стало предметом следующего этапа исследования.

Характеристика клонов разных штаммов *K. pneumoniae*

Анализ характера роста 33 штаммов на плотных питательных средах показал, что у 17 из них наблюдалась диссоциация: на фоне светлых колоний визуализировались темные непрозрачные колонии (рис. 3, III обложка). При этом у разных штаммов количество таких колоний было различно: от единичных до 30%. Подобный феномен образования колоний двух морфотипов наблюдался как у гипермукоидных, так и у классических штаммов.

Были отобраны морфологически различающиеся клоны 17 штаммов, и их принадлежность к виду *K. pneumoniae* была подтверждена методом MALDI-ToF MS (значение Score 2.0–2.5). В жидкой питательной среде рост штаммов обоих морфотипов на первые-вторые сутки сопровождался равномерным помутнением среды, а в более поздние сроки — образованием слизистого осадка и пленки на поверхности. Различия субкультур не были связаны со способностью сорбировать пигменты из среды роста: при посеве на среду с Конго-рот колонии имели одинаковое окрашивание. С целью выяснения причин различий клонов они были исследованы по следующим признакам: сидерофорная активность, плазмидный состав, гипермукоидность и чувствительность к клебсиеллезному бактериофагу (табл. 3). Клоны 14 штаммов были просеквенированы и проанализированы по наличию генов биосинтеза и транспорта четырех сидерофоров и генов регуляторов гипермукоидного фенотипа.

Сравнение сидерофорной активности культур (рис. 4, III обложка), полученных из колоний двух морфотипов, показало, что бактерии, образующие темные колонии, обладают меньшей сидерофорной активностью, чем бактерии из светлых колоний, независимо от их мукоидных свойств.

Для того, чтобы проверить, связаны ли отличия сидерофорной активности между клонами с утратой плазмид, был проведен анализ клонов

по плазмидному составу (рис. 5). При этом выяснилось, что из 17 пар исследованных клонов 10 пар различались по молекулярной массе отдельных плазмид, а 7 пар клонов имели идентичный плазмидный состав. Нельзя исключить, что у этих клонов имеются незначительные мутации в плазмидных генах, которые невозможно зарегистрировать при использовании данного метода.

Анализ мукоидных свойств бактерий из темных и светлых колоний, полученных из гипермукоидных штаммов, показал, что у темных клонов это свойство сохранялось, а у светлых — утрачивалось. Клоны классических штаммов, образующие как темные, так и светлые колонии, признаком мукоидности не обладали.

Все исследованные пары клонов различались по уровню чувствительности к клебсиеллезному бактериофагу: темные клоны имели более низкую чувствительность к фагу, независимо от наличия мукоидного фенотипа (табл. 3). Так, у некоторых штаммов (№ 2, 4, 8, 10, 11, 28, 30) темные колонии были резистентны к фагу, в отличие от светлых вариантов. При этом результат определения фагочувствительности смешанной культуры (табл. 1) мог быть различным: отрицательным (№ 10, 30), положительным (№ 2, 8, 11) или сомнительным (№ 4, 28), что, вероятно, зависело от соотношения в исходной культуре бактерий различных морфотипов.

Секвенирование бактерий, полученных из темных и светлых колоний, выявило между ними ряд различий. В то время как клоны не различались между собой по набору в их геномах сидерофорных кластеров, они имели различия по присутствию генов регуляторов мукоидного фенотипа, *rmpA* и *rmpA2* (табл. 3). Так, оба варианта 11 немучоидных штаммов не содержали *rmpA* и *rmpA2*, за исключением двух штаммов (№ 14 и 30), которые имели дефектный ген *rmpA2*. Бактерии двух морфотипов мукоидных штаммов (№ 4, 26, 28) различались по наличию генов регуляторов (табл. 3): темные клоны сохраняли свойство мукоидности и содержали ген *rmpA*, за исключением штамма № 28, темный клон которого обладал гипермукоидным фенотипом, несмотря на отсутствие *rmpA*. У светлых, немучоидных, клонов этот ген либо отсутствовал (№ 26, 28), либо имел мутацию (№ 4). Наличие интактного или мутантного гена *rmpA2* у бактерий двух типов не оказывало влияния на исследованные нами свойства штаммов.

Полученные данные позволили заключить, что различия двух морфотипов по сидерофорной активности и фагочувствительности не связаны с их мукоидными свойствами, количеством сидерофорных кластеров и присутствием в их геноме генов регуляторов мукоидного фенотипа *rmpA/rmpA2*.

Таблица 3. Фенотипические и генотипические свойства клонов *K. pneumoniae*, различающихся по морфологии колонийTable 3. Phenotypic and genotypic properties of *K. pneumoniae* clones differing in colony morphology

Номер штамма Strain number	Название штамма Strain name	Клоны Clones	Чувствительность к бактериофагу Bacteriophage sensitivity	Сидерофорная активность Siderophore activity	Сидерофоры Siderophores	Мукоидность Mucoviscosity	Гены регуляторов мукоидности Mucoviscosity regulation genes	
							<i>rmpA</i>	<i>rmpA2</i>
1	70966 (S)	+ темн./+ dark	10 ⁻²	-	Ent, Ybt, Sch ^R	-	-	-
		- светл./- light	10 ⁻³	+		-	-	-
2	72138 (S)	+ темн./+ dark	-	-	н.о.**	-	н.о.**	н.о.**
		- светл./- light	10 ⁻³	+++		-		
3	72375 (S)	+ темн./+ dark	10 ⁻¹	+	Ent, Ybt, Sch ^R	-	-	-
		- светл./- light	10 ⁻²	++		-	-	-
4	A 3288 (S)	+ темн./+ dark	-	-	Ent, Ybt, Sch	+	+	+*
		- светл./- light	10 ⁻¹	+		-	+*	+*
8	45473 (R)	+ темн./+ dark	-	+	Ent, Ybt, Sch ^R	-	-	-
		- светл./- light	10 ⁻³	+++		-	-	-
10	A5237(R)	+ темн./+ dark	-	+	Ent, Sch ^R	-	-	-
		- светл./- light	10 ⁻²	++		-	-	-
11	71514 (R)	+ темн./+ dark	-	-	Ent, Ybt, Sch ^R	-	-	-
		- светл./- light	10 ⁻³	++		-	-	-
14	71320	+ темн./+ dark	10 ⁻¹	-	Ent, Ybt, Sch ^R	-	-	+*
		- светл./- light	10 ⁻²	+++		-	-	+*
15	71505	+ темн./+ dark	ц	-	Ent, Ybt, Sch ^R	-	-	-
		- светл./- light	10 ⁻³	+		-	-	-
18	A 106	+ темн./+ dark	-	-	н.о.**	-	н.о.**	н.о.**
		- светл./- light	-	+		-		
19	A 708	+ темн./+ dark	-	+	н.о.**	-	н.о.**	н.о.**
		- светл./- light	-	++		-		
20	A 3292 (л-)	+ темн./+ dark	-	-	Ybt, Sch ^R	-	-	-
		- светл./- light	ц	+		-	-	-
26	И 9537	+ темн./+ dark	-	++	Ent, Ybt, Abt, Sch	+	+	+
		- светл./- light	-	+++		-	-	+
27	И 7762p	+ темн./+ dark	10 ⁻¹	+++	Ent, Abt, Sch ^R	-	-	-
		- светл./- light	10 ⁻²	++++		-	-	-
28	44716	+ темн./+ dark	-	+	Ent, Ybt, Sch ^R	+	-	-
		- светл./- light	10 ⁻²	++		-	-	-
30	K 203	+ темн./+ dark	-	+	Ent, Ybt, Abt, Sch ^R	-	-	+*
		- светл./- light	10 ⁻²	+++		-	-	+*
33	И 9941	+ темн./+ dark	10 ⁻¹	-	Ent, Ybt, Sch ^R	-	-	-
		- светл./- light	10 ⁻²	+		-	-	-

Примечание. *В гене имеется мутация со сдвигом рамки считывания; **секвенирование штамма не проводили.

Note. *The gene contains frame shift mutation; **the strain was not sequenced.

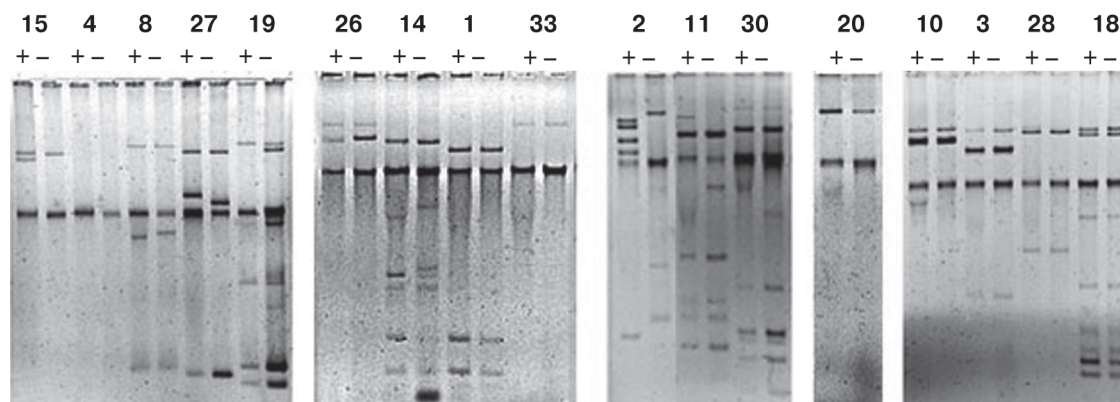


Рисунок 5. Электрофореграмма тотальной клеточной ДНК темных («+») и светлых («-») клонов штаммов *K. pneumoniae* в 0,7% агарозном геле

Figure 5. Electrophoregram of total cellular DNA of dark («+») and light («-») *K. pneumoniae* clones strains in 0.7% agarose gel

Обсуждение

Проведенное исследование разных штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от больных внебольничными пневмониями в Ростове-на-Дону в 2021–2023 гг., выявило различия между ними по ряду фенотипических и генотипических признаков: сидерофорной активности, плазмидному составу, гипермукоидному фенотипу, чувствительности к клебсиеллезному бактериофагу, наличию генов сидерофорных кластеров и регуляторов мукоидного фенотипа.

Способность продуцировать низкомолекулярные хелаторы железа — сидерофоры — известна как один из важных факторов вирулентности разных видов бактерий, в том числе и *K. pneumoniae*. Клебсиеллы способны продуцировать четыре сидерофора: энтеробактин, иерсиниабактин, сальмохелин и аэробактин. Гены двух из этих сидерофоров — сальмохелина и аэробактина, которые характерны для *hvkp*, содержатся на крупных плаزمиде в непосредственной близости от генов регуляторов мукоидного фенотипа *rmpA* и *rmpA2* [15]. Эти данные позволяют объяснить исторически сложившееся представление о корреляции повышенной сидерофорной активности и гипермукоидности штаммов клебсиелл.

Проведенное нами исследование геномов 11 секвенированных штаммов *K. pneumoniae* показало, что они различались по набору генов, кодирующих синтез и транспорт четырех сидерофоров. При этом штаммы, содержащие гены всех четырех сидерофоров, не проявляли максимальной сидерофорной активности на индикаторной среде. Полученные результаты также не выявили связи повышенной сидерофорной активности с гипермукоидностью штаммов. Эти данные не согласуются с данными авторов, предлагавших использовать повышенную

сидерофорную активность в качестве маркера гипервирулентных и гипермукоидных штаммов [24, 25, 26].

Анализ геномов исследованных в настоящей работе штаммов выявил связь признака гипермукоидности с наличием интактного гена *rmpA*, но не *rmpA2*. Так, у шести гипермукоидных штаммов присутствовал ген *rmpA*, а ген *rmpA2* либо отсутствовал, либо содержал единичные инсерции или делеции нуклеотидов, приводящие к сдвигу рамки считывания гена. Аналогичные изменения гена *rmpA2* были отмечены и у пяти немучоидных штаммов, у которых ген *rmpA* не обнаруживался. Интересно, что у всех пяти штаммов имеется ген рецептора сальмохелина, но отсутствуют гены биосинтеза этого сидерофора, что позволяет судить о частичной делеции плазмиды, содержащей гены сальмохелинового кластера и регуляторов мукоидного фенотипа.

Хотя полученные данные свидетельствуют о корреляции гипермукоидности с присутствием гена *rmpA*, нами обнаружен штамм, который обладал гипермукоидным фенотипом, несмотря на отсутствие генов *rmpA* и *rmpA2*. Проведенное ранее исследование вирулентности этого штамма [2] показало, что в дозе 10^5 м.к.л. он не вызывал гибели мышей, в отличие от других гипермукоидных штаммов, имеющих $DCL \leq 10^3$ м.к.л. По-видимому, аттенуация этого штамма связана именно с отсутствием *rmpA* при сохранении гипермукоидности. О существовании у клебсиелл других механизмов регуляции продукции капсулы свидетельствуют многочисленные исследования последних лет [10, 12, 14, 17, 20, 29, 30, 31]. Так, к гиперпродукции капсулы и формированию гипермукоидного фенотипа приводят миссенс-мутации в гене *wzc* [10, 17], который кодирует тирозинкиназу, отвечающую за секрецию и длину цепи кап-

сульного полисахарида. В регуляции экспрессии капсулы участвуют множественные молекулярные механизмы: глобальные регуляторы RcsAB, рецептор cAMP, регулятор метаболизма железа Fur, регуляторы KvrAB, двухкомпонентные регуляторные системы KvgAS и KvhAS [29]. Такое разнообразие регуляторов капсулообразования, очевидно, является индикатором важности капсулы для выживания *K. pneumoniae*. Накапливаются данные о том, что гиперпродукция капсулы не обязательно коррелирует с гипермукоидным фенотипом и присутствием генов *rmpA* и *rmpA2* [20, 29, 30]. Обнаружено, что мутации в генах-регуляторах, входящих в один оперон с *rmpA*, имеют различный эффект: мутация в *rmpC* приводит к снижению капсулообразования, но сохранению гипермукоидности, а в *rmpD* — не изменяет синтез капсулы, но приводит к отсутствию мукоидности [30, 31].

Изучение фенотипических и генотипических свойств клонов (образующих темные и светлые колонии) разных штаммов *K. pneumoniae* показало, что, хотя эти клоны имели идентичный состав сидерофорных кластеров, клоны из темных колоний проявляли сниженную сидерофорную активность и чувствительность к действию клебсиеллезного бактериофага по сравнению со светлыми клонами, независимо от их мукоидных свойств. При этом анализ генов бактерий из темных и светлых колоний подтвердил, что темные клоны гипермукоидных штаммов имели ген *rmpA*, в то время как светлые варианты либо не содержали этот ген, либо он имел мутацию. У немучоидных штаммов этот ген не выявлялся

у обоих вариантов, что указывает на отсутствие связи морфологии колоний с регуляторами мукоидного фенотипа. Причину различий фенотипических свойств двух обнаруженных нами морфотипов *K. pneumoniae* на данном этапе работы выяснить не удалось. Вероятно, их различия в сидерофорной активности и чувствительности к бактериофагу связаны с изменениями клеточной стенки, которые могут быть вызваны самыми разными причинами. О способности клебсиелл образовывать различающиеся по морфологии колонии свидетельствуют данные Nucci A. и соавт. [22], которые обнаружили в популяции *K. varicola* колонии *rdar*-подобного (шероховатые и сухие) морфотипа, образование которого было обусловлено мутациями в генах регуляторов ассимиляции азота (*nac*) и фимбрий III типа (*mrkH*). Свойства описанных авторами *rdar*-подобных колоний отличаются от свойств обнаруженных нами колоний темного морфотипа, для выяснения механизмов образования которого требуются дальнейшие исследования.

Таким образом, проведенное исследование штаммов *K. pneumoniae*, выделенных за последние три года от больных внебольничными пневмониями в г. Ростове-на-Дону, выявило их широкое разнообразие по сидерофорной активности, мукоидности, чувствительности к клебсиеллезному бактериофагу, а также по плазмидному составу, наличию генов четырех сидерофорных кластеров и регуляторов мукоидного фенотипа. Полученные данные свидетельствуют о широкой вариативности свойств клебсиелл, лежащих в основе их эволюционной пластичности.

Список литературы/References

1. Агеевец В.А., Агеевец И.В., Сидоренко С.В. Конвергенция множественной резистентности и гипervирулентности у *Klebsiella pneumoniae* // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 450–460. [Ageevets V.A., Ageevets I.V., Sidorenko S.V. Convergence of multiple resistance and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 450–460. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-COM-1825
2. Анисимова А.С., Павлович Н.В., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Гудуева Е.Н., Пасюкова Н.И., Теплякова Е.Д., Носков А.К. Биологические свойства и антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae* и ее роль в этиологической структуре возбудителей внебольничных пневмоний // Антибиотики и химиотерапия. 2023. Т. 68, № 5–6. С. 11–18. [Anisimova A.S., Pavlovich N.V., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Gudueva E.N., Pasyukova N.I., Teplyakova E.D., Noskov A.K. Biological properties and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* and its role in the etiological structure of community-acquired pneumonia pathogens. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2023, vol. 68 (5–6), pp. 11–18. (In Russ.)] doi: 10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-11-18
3. Водопьянов А.С., Трухачев А.Л., Подладчикова О.Н., Писанов Р.В. ContigSearcher — программа для анализа результатов полногеномного секвенирования, определение наличия последовательностей различных генов в контигах, полученных при секвенировании, выявления INDEL-мутаций. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018611348 от 01.02.2018. [Vodopyanov A.S., Trukhachev A.L., Podladchikova O.N., Pisanov R.V. ContigSearcher — a program for analyzing the results of whole-genome sequencing, determining the presence of sequences of various genes in the contigs obtained during sequencing, and detecting INDEL mutations. Certificate of state registration of the computer program No. 2018611348 dated 02/01/2018. (In Russ.)]
4. Кузнецова Д.А., Водопьянов А.С., Подладчикова О.Н., Рыкова В.А., Трухачев А.Л. «SiderophoreAnalyzer» — программа для выявления генов, отвечающих за синтез сидерофоров, в полногеномных нуклеотидных последовательностях. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022680676 от 03.08.2022 г. [Kuznetsova D.A., Vodopyanov A.S., Podladchikova O.N., Rykova V.A., Trukhachev A.L. «SiderophoreAnalyzer» — a program for identifying genes responsible for the synthesis of siderophores in whole-genome nucleotide sequences. Certificate of state registration of the computer program No. 2022680676 dated 08/03/2022. (In Russ.)]

5. Методические указания для работы на приборах серии flex компании Bruker Daltonics. Прямое белковое профилирование. М., 2010. [MU for operation on Bruker Daltonics flex series devices "Direct protein profiling". Moscow, 2010. (In Russ.)]
6. Использование метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) для индикации и идентификации возбудителей I–II групп патогенности: методические указания МУК 4.2.0089-14. [The use of time-of-flight mass spectrometry with matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI-ToF MS) for the indication and identification of pathogens of pathogenicity groups I–II: Methodological guidelines MUC 4.2.0089-14. (In Russ.)]
7. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Подопригора И.В., Шагин Д.А. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 1. С. 4–19. [Chebotar I.V., Bocharova Yu.A., Podoprigora I.V., Shagin D.A. The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, vol. 22, no. 1, pp. 4–19. (In Russ.)] doi: 10.36488/cmac.2020.1.4-19
8. Bialek-Davenet S., Criscuolo A., Ailloud F., Passet V., Jones L., Delannoy-Vieillard A.S., Garin B., Le Hello S., Arlet G., Nicolas-Chanoine M.H., Decré D., Brisse S. Genomic definition of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal groups. *Emerg. Infect. Dis.*, 2014, vol. 20, no. 11, pp. 1812–1820. doi: 10.3201/eid2011.140206
9. Dai P., Hu D. The making of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2022, vol. 36, no. 12: e24743. doi: 10.1002/jcla.24743
10. Ernst C.M., Braxton J.R., Rodriguez-Osorio C.A., Zagieboylo A.P., Li L., Pironti A., Manson A.L., Nair A.V., Benson M., Cummins K., Clatworthy A.E., Earl A.M., Cosimi L.A., Hung D.T. Adaptive evolution of virulence and persistence in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Nat. Med.*, 2020, vol. 26, pp. 705–711. doi: 10.1038/s41591-020-0825-4
11. Guo Y., Wang S., Zhan L., Jin Y., Duan J., Hao Z., Lv J., Qi X., Chen L., Kreiswirth B.N., Wang L., Yu F. Microbiological and clinical characteristics of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* isolates associated with invasive infections in China. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2017, vol. 7: 24. doi: 10.3389/fcimb.2017.00024
12. Harada S., Aoki K., Yamamoto S., Ishii Y., Sekiya N., Kurai H., Furukawa K., Doi A., Tochtani K., Kubo K., Yamaguchi Y., Narita M., Kamiyama S., Suzuki J., Fukuchi T., Gu Y., Okinaka K., Shiiki S., Hayakawa K., Tachikawa N., Kasahara K., Nakamura T., Yokota K., Komatsu M., Takamiya M., Tateda K., Doi Y. Clinical and molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bloodstream infections in Japan: occurrence of hypervirulent infections in health care. *J. Clin. Microbiol.*, 2019, vol. 57, no. 11: e01206-19. doi: 10.1128/JCM.01206-19
13. Holden V.I., Breen P., Houle S., Dozois C.M., Bachman M.A. *Klebsiella pneumoniae* siderophores induce inflammation, bacterial dissemination, and HIF-1 α stabilization during pneumonia. *mBio*, 2016, vol. 7, no. 5: e01397-16. doi: 10.1128/mBio.01397-16
14. Imai K., Ishibashi N., Kodana M., Tarumoto N., Sakai J., Kawamura T., Takeuchi S., Taji Y., Ebihara Y., Ikebuchi K., Murakami T., Maeda T., Mitsutake K., Maesaki S. Clinical characteristics in blood stream infections caused by *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella variicola*, and *Klebsiella quasipneumoniae*: a comparative study, Japan, 2014–2017. *BMC Infect. Dis.*, 2019, vol. 19, no. 1: 946. doi: 10.1186/s12879-019-4498-x
15. Jia X., Zhu Y., Jia P., Liu X., Yu W., Li X., Xu Y., Yang Q. Emergence of a superplasmid coharboring hypervirulence and multidrug resistance genes in *Klebsiella pneumoniae* poses new challenges to public health. *Microbiol. Spectr.*, 2022, vol. 10, no. 6: e0263422. doi: 10.1128/spectrum.02634-22
16. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.*, 1981, vol. 145, no. 3, pp. 1365–1373. doi: 10.1128/jb.145.3.1365-1373.1981
17. Khadka S., Ring B.E., Walker R.S., Krzeminski L.R., Pariseau D.A., Hathaway M., Mobley H.L.T., Mike L.A. Urine-mediated suppression of *Klebsiella pneumoniae* mucoidy is counteracted by spontaneous Wzc variants altering capsule chain length. *mSphere*, 2023, vol. 8, no. 5: e0028823. doi: 10.1128/msphere.00288-23
18. Lam M.M.C., Wyres K.L., Judd L.M., Wick R.R., Jenney A., Brisse S., Holt K.E. Tracking key virulence loci encoding aerobactin and salmochelin siderophore synthesis in *Klebsiella pneumoniae*. *Genome Med.*, 2018, vol. 10, no. 1: 77. doi: 10.1186/s13073-018-0587-5
19. Lawlor M.S., O'Connor C., Miller V.L. Yersiniabactin is a virulence factor for *Klebsiella pneumoniae* during pulmonary infection. *Infect Immun.*, 2007, vol. 75, no. 3, pp. 1463–1472. doi: 10.1128/IAI.00372-06
20. Mike L.A., Stark A.J., Forsyth V.S., Vornhagen J., Smith S.N., Bachman M.A., Mobley H.L.T. A systematic analysis of hypermucoviscosity and capsule reveals distinct and overlapping genes that impact *Klebsiella pneumoniae* fitness. *PLoS Pathog.*, 2021, vol. 17, no. 3: e1009376. doi: 10.1371/journal.ppat.1009376
21. Namikawa H., Niki M., Niki M., Oinuma K.I., Yamada K., Nakaie K., Tsubouchi T., Tochino Y., Takemoto Y., Kaneko Y., Kakeya H., Shuto T. Siderophore production as a biomarker for *Klebsiella pneumoniae* strains that cause sepsis: a pilot study. *J. Formos Med. Assoc.*, 2022, vol. 121, no. 4, pp. 848–855. doi: 10.1016/j.jfma.2021.06.027
22. Nucci A., Janaszkiwicz J., Rocha E.P.C., Rendueles O. Emergence of novel non-aggregative variants under negative frequency-dependent selection in *Klebsiella variicola*. *MicroLife*, 2023, vol. 4: uqad038. doi: 10.1093/femsl/uqad038
23. Russo T.A., Marr C.M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2019, vol. 32, pp. 1–42. doi: 10.1128/CMR.00001-19
24. Russo T.A., Olson R., Macdonald U., Metzger D., Maltese L.M., Drake E.J., Gulick A.M. Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Immun.*, 2014, vol. 82, no. 6, pp. 2356–2367. doi: 10.1128/IAI.01667-13
25. Russo T.A., Olson R., Fang C.T., Stoesser N., Miller M., MacDonald U., Hutson A., Barker J.H., La Hoz R.M., Johnson J.R. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.*, 2018, vol. 56, no. 9: e00776-18. doi: 10.1128/JCM.00776-18
26. Russo T.A., Shon A.S., Beanan J.M., Olson R., MacDonald U., Pomakov A.O., Visitacion M.P. Hypervirulent *K. pneumoniae* secretes more and more active iron-acquisition molecules than "classical" *K. pneumoniae* thereby enhancing its virulence. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no. 10: e26734. doi: 10.1371/journal.pone.0026734

27. Schwyn B., Neilands J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.*, 1987, vol. 160, no. 1, pp. 47–56. doi: 10.1016/0003-2697(87)90612-9
28. Shukla S., Joshi P., Trivedi P., Akinwotu O., Gajjar D. Genomic islands in *Klebsiella pneumoniae*. In: Microbial genomic islands in adaptation and pathogenicity. Eds: Mani I., Singh V., Alzahrani K.J., Chu D.T. *Springer, Singapore, 2023, pp. 255–278.* doi: 10.1007/978-981-19-9342-8_13
29. Walker K.A., Miller V.L. The intersection of capsule gene expression, hypermucoviscosity and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2020, vol. 54, pp. 95–102. doi: 10.1016/j.mib.2020.01.006
30. Walker K.A., Miner T.A., Palacios M., Trzilova D., Frederick D.R., Broberg C.A., Sepúlveda V.E., Quinn J.D., Miller V.L., Goldberg J.B. A *Klebsiella pneumoniae* regulatory mutant has reduced capsule expression but retains hypermucoviscosity. *mBio*, 2019, vol. 10: e00089-19. doi: 10.1128/mBio.00089-19
31. Walker K.A., Treat L.P., Sepúlveda V.E., Miller V.L., Heran Darwin K. The small protein RmpD drives hypermucoviscosity in *Klebsiella pneumoniae*. *mBio*, 2020, vol. 11: e01750-20. doi: 10.1128/mBio.01750-20
32. Zhu J., Wang T., Chen L., Du H. Virulence factors in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Microbiol.*, 2021, vol. 12, pp. 1–14. doi: 10.3389/fmicb.2021.642484

Авторы:

Рыкова В.А., к.б.н., научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Подладчикова О.Н., к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Анисимова А.С., младший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Аронова Н.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Водопьянов А.С., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Темякова С.Ю., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Гудуева Е.Н., младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия.

Authors:

Rykova V.A., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Scientific Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Podladchikova O.N., PhD (Chemistry), Senior Researcher, Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Scientific Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Anisimova A.S., Junior Researcher, Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Scientific Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Aronova N.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Scientific Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Vodopyanov A.S., PhD (Medicine), Leading Researcher, Molecular Biology Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Scientific Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Temyakova S.Yu., Junior Researcher, Molecular Biology Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Scientific Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Gudueva E.N., Junior Researcher, Laboratory “Collection of Pathogenic Microorganisms”, Rostov-on-Don Scientific Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation.

НОЗОКОМИАЛЬНАЯ ИНФЕКЦИЯ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* В КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОМ СТАЦИОНАРЕ: КЛИНИКО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

М.В. Кузнецова^{1,2}, В.С. Михайловская^{1,3}, Л.Г. Кудрявцева⁴, В.И. Сергеев²

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН — филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Пермь, Россия

² ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь, Россия

³ АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Россия

⁴ ФГБУ Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова Минздрава России, г. Пермь, Россия

Резюме. *Klebsiella pneumoniae* занимает доминирующее положение в структуре возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и ассоциирована с высокой смертностью пациентов, оперированных по поводу заболеваний сердечно-сосудистой системы. *K. pneumoniae* классифицируют на классические (сКр) и гипервирулентные (hvКр): сКр вызывают нозокомиальные инфекции и часто имеют фенотип множественной лекарственной устойчивости (MDR-сКр), тогда как hvКр чувствительны к антибиотикам, но обладают высокой вирулентностью. Ранее была представлена молекулярно-генетическая характеристика изолятов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов кардиохирургического стационара. В данной работе проведена оценка клинических и микробиологических факторов риска, развития и неблагоприятного исхода нозокомиальной инфекции, вызванной *K. pneumoniae*. На фоне исходно тяжелого коморбидного состояния пациентов наиболее значимыми факторами риска оказались: женский пол, возраст старше 65 лет, длительность пребывания в отделении анестезиологии и реанимации и наличие сопутствующего заболевания. Средняя продолжительность пребывания в стационаре была в 1,7 раз выше у пациентов, инфицированных MDR-сКр, чем при инфицировании hvКр. Осложнения инфекции (полиорганная недостаточность, инфекции кровотока), как и летальные исходы, были подтверждены только в группе пациентов с инфекцией MDR-сКр. Таким образом, в госпитальном периоде более существенным фактором риска оказалась множественная лекарственная устойчивость, чем гипервирулентность *K. pneumoniae*. Необходимо отметить, что был обнаружен один конвергентный изолят MDR-hvКр, что может представлять серьезную проблему в лечении пациентов при дальнейшем распространении таких *K. pneumoniae*.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, кардиохирургический стационар, мультирезистентность, гипервирулентность, нозокомиальные инфекции, факторы риска.

Адрес для переписки:

Кузнецова Марина Валентиновна
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13,
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН.
Тел.: 8 (342) 212-44-76. E-mail: mar@iegm.ru

Contacts:

Marina V. Kuznetsova
614081, Russian Federation, Perm, Goleva str., 13,
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch
Russian Academy of Sciences.
Phone: +7 (342) 212-44-76. E-mail: mar@iegm.ru

Для цитирования:

Кузнецова М.В., Михайловская В.С., Кудрявцева Л.Г., Сергеев В.И. Нозокомиальная инфекция *Klebsiella pneumoniae* в кардиохирургическом стационаре: клинико-микробиологические особенности // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1117–1130. doi: 10.15789/2220-7619-NKP-17665

Citation:

Kuznetsova M.V., Mihailovskaya V.S., Kudryavtseva L.G., Sergeev V.I. Nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infection in a cardiac surgery hospital: clinical and microbiological features // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1117–1130. doi: 10.15789/2220-7619-NKP-17665

Работа выполнена в рамках НИОКТР «Биоразнообразие микроорганизмов антропогенно загрязненных экосистем и функционально-генетические механизмы их адаптации к стрессовым условиям окружающей среды» № 124020500028-4.

The work was carried out within the framework of the research and development project "Biodiversity of microorganisms in anthropogenically contaminated ecosystems and functional-genetic mechanisms of their adaptation to stress conditions of the environment" No. 124020500028-4.

NOSOCOMIAL *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* INFECTION IN A CARDIAC SURGERY HOSPITAL: CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL FEATURES

Kuznetsova M.V.^{a,b}, Mihailovskaya V.S.^{a,c}, Kudryavtseva L.G.^d, Sergevnin V.I.^b

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

^b Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation

^c Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Russian Federation

^d Cardiovascular Surgery Federal Center named after S.G. Sukhanov Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russian Federation

Abstract. *Klebsiella pneumoniae* dominates among the pathogens that cause healthcare-associated infections and closely associated with high mortality of patients undergoing heart surgery. *K. pneumoniae* spp. are classified into classical (сКр) and hypervirulent (hvКр): сКр causing nosocomial infections often exerting a multidrug resistance phenotype (MDR-сКр), whereas hvКр are sensitive to antibiotics, but have high virulence. Earlier, we presented the molecular genetic characteristics of *K. pneumoniae* bacteria isolated from patients at the cardiac surgical hospital. Here, clinical and microbiological risk factors as well as those underlying infection development and adverse outcome of nosocomial infection caused by *K. pneumoniae* were evaluated. Along with initially severe comorbidities, the most significant risk factors were the following: female gender, age over 65 years, length of stay at the Department of Anesthesiology and Intensive Care as well as other detected comorbidities. The average length of stay was 1.7 times longer among MDR-сКр vs hvКр patients. Complications (multiple organ dysfunction syndrome, bloodstream infections), as well as mortality rate were recorded only in MDR-сКр patient group. Thus, in hospital period, *K. pneumoniae* multidrug resistance rather than hypervirulence turned out to be a more contributing risk factor. It should be noted that one convergent MDR-hvКр isolate has been detected, which may pose a serious problem in treatment of patients upon further spread of such *K. pneumoniae* bacteria.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, cardiac surgery hospital, multiresistance, hypervirulence, nosocomial infections, risk factors.

Введение

Klebsiella pneumoniae — один из наиболее значимых оппортунистических патогенов, вызывающих как локальные гнойно-воспалительные заболевания, например, пневмонию, так и генерализованные инфекции, включающие тяжелые, нередко жизнеугрожающие состояния — менингит и сепсис [9, 15, 32]. Антибиотикоустойчивые представители этого вида являются основной причиной летальности пациентов стационаров во всем мире, и, наряду с другими возбудителями, классифицируются ВОЗ как критически приоритетные патогены для разработки антибактериальных препаратов [12]. Среди энтеробактерий *K. pneumoniae* наиболее часто содержат несколько детерминант антибиотикорезистентности, включая AmpC, β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) и карбапенемазы, при этом уровень устойчивости возбудителей к препаратам последнего резерва (антибиотикам класса карбапенемов) неуклонно возрастает [4, 33].

Бактерии *K. pneumoniae* подразделяются на две группы согласно патотипу: классические *K. pneumoniae* (сКр), вызывающие нозокомиальные инфекции у иммунокомпрометированных пациентов, и гипervирulentные (hvКр), являющиеся причиной внебольничных диссеминированных инфекций у здоровых людей [13, 18, 35]. В последнее время появляется все больше сообщений о внутрибольничном распростра-

нении hvКр, в том числе клонов высокого риска [10, 21, 22, 27]. Активно обсуждается формирование внутрибольничных конвергентных форм *K. pneumoniae*. Первый случай внутрибольничной вспышки, вызванной *K. pneumoniae*, демонстрирующей одновременно гипervирulentность и множественную антибиотикорезистентность, описан в отделении интенсивной терапии больницы Чжэцзянского университета (Ханчжоу, Китай) в 2016 г. [24]. Предполагается, что наличие среди изолятов *K. pneumoniae* генов гипervирulentности может представлять потенциальную угрозу для стационаров, особенно в случае конъюгативного переноса плазмиды с генами антибиотикорезистентности от классической внутрибольничной клебсиеллы к гипervирulentной с формированием гибридного патотипа [28, 34].

Инвазивные кардиохирургические вмешательства, в том числе трансплантация сердца, аортокоронарное шунтирование, восстановление и замена сердечного клапана и другие реконструктивно-пластические операции зачастую выполняются на открытом сердце и являются чрезвычайно травматичными. Обязательной процедурой при таких вмешательствах считается периоперационная антибиотикопрофилактика [31]. Растущий уровень резистентности к антибиотикам опосредует рост случаев инфекционных осложнений, в первую очередь — раневой инфекции, медиастенита и пневмонии, что увеличивает дли-

тельность пребывания пациента в больнице и дополнительные расходы [1, 7]. Кроме того, в группе пациентов с инфекциями, вызванными бактериями с множественной лекарственной устойчивостью (MDR), отмечен более высокий уровень смертности, чем при инфицировании бактериями без MDR [14, 25].

Ранее мы представили молекулярно-генетическую характеристику изолятов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов кардиохирургического стационара [3]. Возбудители имели гетерогенные генетические профили, в большинстве случаев оказались мультирезистентными, продуцировали БЛРС, в том числе карбапенемазы различных типов, в 8% случаях демонстрировали гипермукоидный фенотип. В данной работе мы оцениваем нозокомиальную клебсиеллезную инфекцию (тяжесть течения и исход заболевания) с учетом общеклинических данных пациентов и биологических свойств возбудителя — антибиотикоустойчивости и его патотипа (классический или гипервирулентный). Последнее особенно актуально, так как роль *hlyKp* в возникновении инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, течения заболевания и его исходе в кардиохирургии, остается недостаточно изученной.

Цель исследования — изучить клинические и микробиологические факторы развития и исхода инфекции, вызванной *K. pneumoniae*, в кардиохирургическом стационаре.

Материалы и методы

Характеристика пациентов. В настоящее исследование было включено 45 пациентов — бактерионосителей *K. pneumoniae* ($n = 6$) и с манифестными формами инфекции *K. pneumoniae* ($n = 39$), находившихся на лечении в кардиохирургическом стационаре в период с мая 2021 г. по январь 2023 г. Были проанализированы данные медицинских карт стационарных больных и оценены: пол, возраст, сопутствующие патологии, длительность пребывания в отделении анестезиологии и реанимации (ОАиР) и кардиохирургических отделениях, наличие 2 и более очагов инфекции клебсиеллезной этиологии, тип и нозологическая форма инфекционного процесса.

Среди пациентов 46,7% (21/45) составили мужчины и 53,3% (24/45) женщины (табл. 1). Доля пациентов до 1 года была 13,3% (6/45). Средний возраст совершеннолетних пациентов составил $64,1 \pm 9,0$ лет. Большинство пациентов с клебсиеллезной инфекцией длительно (более 48 ч) находились в ОАиР (27/45), остальные пациенты поступили в кардиохирургические отделения (КХО) без прохождения ОАиР или находились в ОАиР менее 48 ч: 18% (8/45)

из КХО № 1, 14% (7/45) из КХО № 2, 2% (1/45) из КХО № 3 и 4,4 (2/45) КХО № 4. У пациентов с инфекцией *K. pneumoniae* диагностирован ряд сопутствующих патологий: ожирение (8/45), сахарный диабет (СД) (7/45), злокачественные новообразования (ЗНО) (2/45), бронхиальная астма (БА), хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) (9/45), интерстициальная болезнь легких (1/45), внутриутробная пневмония (ВУП) (1/45) и бактериально-вирусная пневмония (БВП), в том числе новая коронавирусная инфекция COVID-19, в анамнезе (14/45). Среди пациентов, оперированных по поводу заболеваний сердечно-сосудистой системы, подтверждено 39 случаев активной инфекции, вызванных *K. pneumoniae*. Частота внутрибольничных пневмоний (ВП) составила 60% (27/45), инфекций области хирургического вмешательства (ИОХВ) и катетер-ассоциированных инфекций кровотока (КАИК) — по 13,3% (6/45). От 6 пациентов *K. pneumoniae* были изолированы при мониторинге (колонизация). Осложнения были выявлены у 19 пациентов кардиохирургического стационара. В 26 случаях *K. pneumoniae* выделяли в моноварианте, в 19 случаях — в составе ассоциаций, в которых бактерии других таксонов представлены в количестве $< 10^4$ КОЕ/мл.

Микробиологический анализ. В данное исследование было включено 45 изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из клинического материала пациентов (мокрота, кровь, моча, отделяемое раны, материал со слизистых зева или носа). В анализ не были включены культуры, полученные из проб окружающей среды, а также дубликаты изолятов от одного и того же пациента. Бактериологические исследования были выполнены на автоматическом анализаторе «WalkAway-96Plus» (Beckman Coulter, США) с использованием панели NBC 41. Чувствительность к антибиотикам, присутствие генов бета-лактамаз и генов, ассоциированных с гипервирулентностью, оценивали ранее [3].

Статистический анализ. Непрерывные переменные с нормальным распределением были выражены как среднее значение и отклонение от среднего, а непрерывные переменные с ненормальным распределением — как медиана и отклонение от медианы. Для качественных переменных значимость различий оценивали с использованием точного критерия Фишера. Различия между количественными переменными оценивали с помощью теста Стьюдента. Значения $p < 0,05$ считались достоверными. Для исследования взаимосвязи переменных рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона. Для оценки значимости признака вычисляли отношение шансов (ОШ) с определением 95%-ного доверительного интервала (ДИ).

Таблица 1. Клинические характеристики пациентов кардиохирургического стационара

Table 1. Clinical characteristics of cardiac surgery hospital patients

Клинические характеристики Clinical characteristics		Количество пациентов Number of patients n (%)
Пол Gender	Мужской Male	21 (46,7)
	Женский Female	24 (53,3)
Возраст Age	< 1 года < 1 year	6 (13,3)
	25–64 лет 25–64 year	14 (31,1)
	65–85 лет 65–85 year	25 (55,6)
Сопутствующие патологии Comorbidity	Сопутствующие патологии отсутствуют There are no concomitant pathologies	19 (42,2)
	Сопутствующие патологии диагностированы всего, в том числе: Concomitant pathologies have been diagnosed in total, including:	26 (57,8)
	- ожирение - adiposity	8 (17,8)
	- злокачественные новообразования - malignant tumor	2 (4,4)
	- сахарный диабет - diabetes	7 (15,6)
	- бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких - bronchial asthma, hronic obstructive pulmonary disease	9 (20,0)
	- интерстициальная болезнь легких - interstitial lung disease	1 (2,2)
	- внутриутробная пневмония - intrauterine pneumonia	1 (2,2)
- реконвалесцент бактериально-вирусной инфекции - reconvalescence of bacterial and viral infection	14 (31,1)	
Длительность пребывания в отделении реанимации Duration of stay in the intensive care unit	Без/до 48 ч Without/up to 48 hours	27 (60)
	Более 48 ч More than 48 hours	18 (40)
Тип инфекционного процесса, нозологическая форма Type of infectious process, nosological form	Колонизация Colonization	6 (13,3)
	Активная инфекция, в том числе: Active infection, including:	39 (86,7)
	- внутрибольничная пневмония - nosocomial pneumonia	27 (60,0)
	- инфекция кровотока - infection of the bloodstream	6 (13,3)
- инфекция области хирургического вмешательства - infection of the surgical area	6 (13,3)	
Осложнения Complications	Осложнения отсутствуют There are no complications	26 (57,8)
	Осложнения выявлены всего, в том числе: Complications have been identified, including:	19 (42,2)
	- SIRS	14 (31,1)
	- инфекционный эндокардит - infectious endocarditis	2 (4,4)
	- внутрибольничная пневмония - nosocomial pneumonia	1 (2,2)
	- инфекция области хирургического вмешательства - infection of the surgical area	2 (4,4)

Клинические характеристики Clinical characteristics		Количество пациентов Number of patients n (%)
Форма инфекции The form of infection	Моноинфекция Monoinfection	26 (57,8)
	Микст-инфекция Mixed infection	19 (42,2)

Примечание. ЗНО — злокачественные новообразования, СД — сахарный диабет, БА — бронхиальная астма, ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких, ИБЛ — интерстициальная болезнь легких, ВУП — врожденная внутриутробная пневмония, реконвалесцент БВИ (реконвалесцент бактериально-вирусной инфекции: внебольничной пневмонии, новой коронавирусной инфекции COVID-19, сепсиса, острого инфекционного эндокардита), ВП — внутрибольничная пневмония, SIRS — синдром системного воспалительного ответа, ИК — инфекция кровотока, ИОХВ — инфекции области хирургического вмешательства, ИЭ — инфекционный эндокардит.

Результаты

K. pneumoniae была выделена у 45 больных с частотой от 0 до 7 случаев в месяц. Продолжительность пребывания пациентов в отделениях кардиохирургического стационара с учетом сроков выделения *K. pneumoniae* показана на рисунке. Общая продолжительность госпитализации колебалась от 5 до 148 дней и сильно варьировала между пациентами и отделениями. Максимальная продолжительность госпитализации приходилась на пациентов ОАиР (39±17 койко-дней), КХО № 2 (37±17 койко-дней) и КХО № 1 (30±9 койко-дней), для пациентов ОАиР КХО № 4 медиана срока госпитализации составила 9±4 койко-дней. Сроки выявления *K. pneumoniae* от пациентов находились в интервале от 1 до 86 дней и, в среднем, составили 20,4±14,8 дней. Была обнаружена сильная корреляционная связь между продолжительностью госпитализации и сроком выявления *K. pneumoniae* ($r = 0,78$; $p < 0,05$) (рис., Б). Также установлено, что вероятность летального исхода была в 5 раз выше при обнаружении *K. pneumoniae* в течение 20–40 дней, чем при выявлении в первые 10 дней госпитализации (ОШ = 5,11, 95% ДИ: 1,18–22,16).

Генетически идентичные изоляты *K. pneumoniae*, выявленные ранее в гер-ПЦР, циркулировали внутри одного отделения (в ОАиР от пациентов 5 и 18), а также между отделениями: реанимация — КХО № 2 (пациенты 11 и 15), КХО № 4 — КХО № 1 — реанимация (пациенты 21, 10, 42) и КХО № 1 — реанимация (пациенты 44 и 43). Длительность циркуляции штаммов колебалась от 2 до 9 месяцев (рис., В). Следует отметить, что эпидемиологические связи прерывались на период больше месяца, что может свидетельствовать о скрытых источниках инфекции среди медицинского персонала и объектов больничной среды.

На исход инфекционного процесса влияет не только продолжительность госпитализации, но и другие факторы (пол, возраст, показатели состояния здоровья пациента). Оценка основных факторов риска, ассоциированных с ис-

ходом заболевания пациентов, представлена в табл. 2. Летальность среди пациентов женского пола была почти в 2 раза выше, чем среди лиц мужского пола (64,7% vs 35,3%). Для лиц старше 65 лет смертность была в 4,6 раза выше, чем для больных моложе 65 лет (82,4% vs 17,6%). У всех детей до 1 года наблюдалось выздоровление. Большая часть летальных исходов (82,4%) пришлась на пациентов, длительно (более 48 ч) находившихся в ОАиР. Сахарный диабет и ХОБЛ повышали риск неблагоприятного исхода от *K. pneumoniae* в 2,6 раз (ОШ = 2,564, 95% ДИ: 0,497–13,220), а злокачественные новообразования, бронхиальная астма и коронавирусная инфекция в анамнезе — в 1,7 раз.

В группе пациентов с активной инфекцией развитие катетер-ассоциированных инфекций кровотока (ИК) повышало шанс летального исхода в 4 раза, а инфекций области хирургического вмешательства (ИОХВ), в 1,8 раз. Появление осложнений было тесно связано с летальностью ($p < 0,001$). Так, развитие синдрома системного воспалительного ответа (англ. systemic inflammatory response syndrome, SIRS) наблюдалось исключительно у пациентов с летальным исходом. У всех пациентов без проявления клинических признаков клебсиеллезной инфекции (колонизация) зафиксировано выздоровление.

В 19 случаях *K. pneumoniae* выделяли в составе ассоциаций. Шанс летального исхода оказался в 3 раза выше среди пациентов с микст-инфекцией, чем в группе лиц с инфекцией, вызванной только *K. pneumoniae* (ОШ = 3,016, 95% ДИ: 0,864–10,524) (табл. 2). Совместно с доминирующим возбудителем *K. pneumoniae* у 42,2% (19/45) пациентов были выделены другие виды бактерий (микст-инфекция): в первую очередь — грибы рода *Candida* (47,4%, 9/19), реже выделялись *Acinetobacter baumannii* (26,3%, 5/19), *Staphylococcus* spp. (21,1%, 4/19), *Pseudomonas aeruginosa* (15,8%, 3/19), *Streptococcus* spp. (10,5%, 2/19), *Enterococcus faecium* и *Escherichia coli* (по 5,3%, 1/19) (Дополнительная табл. 1).

Важными факторами инфекционного процесса являются биологические свойства возбу-

дителя: антибиотикорезистентность и вирулентность. Мы показали, что изоляты *K. pneumoniae*, выделенные от пациентов в условиях кардиохирургического стационара, продемонстрировали высокую устойчивость к основным антибиотикам (Кузнецова и др., 2024). Доля пациентов, инфицированных мультирезистентными клас-

сическими MDR-сКр, составила 84,4% (38/45), из которых 37 с расширенным спектром резистентности (XDR), панрезистентными изолятами (PDR) — 42,2% (19/45). От 2 пациентов были изолированы классические, но не MDR-сКр. В предыдущем исследовании было обнаружено, что изоляты *K. pneumoniae* с комбинацией трех

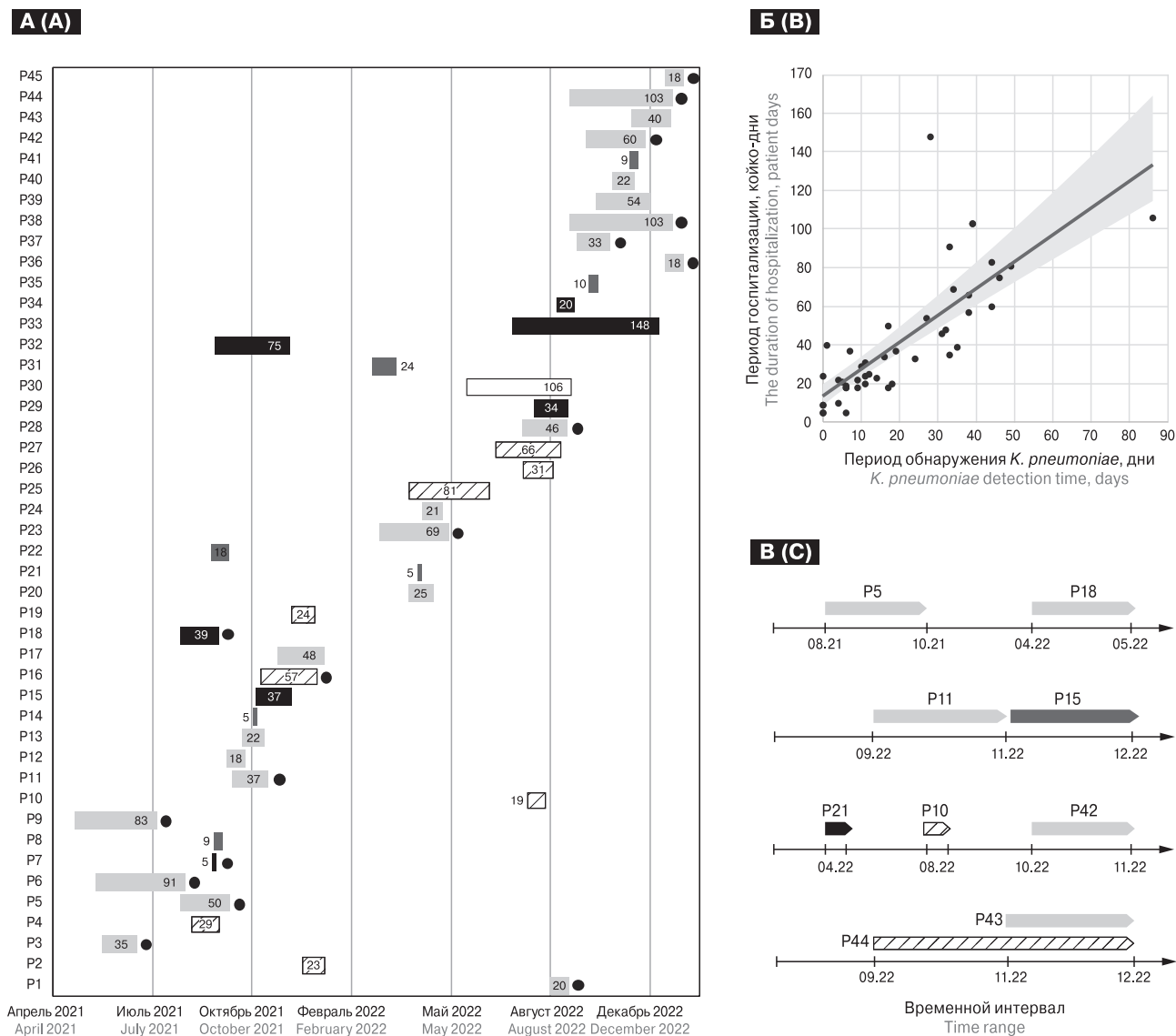


Рисунок. Диаграмма Ганта, показывающая динамику случаев выделения *K. pneumoniae* от пациентов и продолжительность их пребывания в отделениях кардиохирургического стационара (А), связь между сроком выявления *K. pneumoniae* и продолжительностью пребывания (Б) и эпидемиологические цепочки циркуляции идентичных штаммов (В)
 Figure. Gantt chart showing dynamics of cases of *K. pneumoniae* isolation from patients and the length of stay in the departments of the cardiac surgery hospital (A), the relationship between the period of detection of *K. pneumoniae* and the length of stay (B) and the transmission chain of identical strains (C)

Примечание. Число показывает количество койко-дней. Цвет отражает тип отделения: светло-серый — отделения анестезиологии и реанимации, штриховка — кардиохирургическое отделение № 1, темно-серый — кардиохирургическое отделение № 2, белый — кардиохирургическое отделение № 3, черный — кардиохирургическое отделение № 4. Летальные исходы обозначены черным кружком.
 Note. The number shows the number of bed-days. The color reflects the type of department: light grey — anesthesiology and intensive care departments, shaded blocks — cardiac surgery department No. 1, dark grey — cardiac surgery department No. 2, white — cardiac surgery department No. 3, black — cardiac surgery department No. 4. Deaths are indicated by a black circle.

Таблица 2. Клинические характеристики пациентов кардиохирургического стационара с диагностированной инфекцией *K. pneumoniae*, распределенных с учетом исхода заболевания

Table 2. Clinical characteristics of cardiac surgery hospital patients with *K. pneumoniae* infection according to the outcome of the disease

Клинические характеристики Clinical characteristics		Количество пациентов с диагностированной инфекцией <i>K. pneumoniae</i> Number of patients diagnosed with <i>K. pneumoniae</i> infection n (%)		Отношение шансов [95% ДИ] Odds ratio [95% CI]	Точный критерий Фишера (p) Fisher's exact test (p-value)
		Выздоровление Convalescence 28 (100)	Летальный исход Fatal outcome 17 (100)		
Пол Gender	Мужской Male	15 (53,6)	6 (35,3)	2,115 [0,611–7,320]	0,356
	Женский Female	13 (46,4)	11 (64,7)		
Возраст Age	< 1 года < 1 year	6 (21,4)	0	–	–
	25–64 лет 25–64 year	11 (39,3)	3 (17,6)	4,667 [1,040–20,938]	0,049
	65–85 лет 65–85 year	11 (39,3)	14 (82,4)		
Длительность пребывания в отделении реанимации Duration of stay in the intensive care unit	Без/до 48 ч Without/up to 48 hours	15 (53,6)	3 (17,6)	5,385 [1,261–22,987]	0,027
	Более 48 ч More than 48 hours	13 (46,4)	14 (82,4)		
Сопутствующие патологии Comorbidity	Сопутствующие патологии отсутствуют There are no concomitant pathologies	13 (46,4)	6 (35,3)	1,589 [0,459–5,498]	0,543
	Сопутствующие патологии диагностированы всего, в том числе: Concomitant pathologies have been diagnosed in total, including:	15 (53,6)	11 (64,7)		
	- ожирение - adiposity	5 (17,9)	3 (17,6)	0,986 [0,203–4,776]	1,000
	- злокачественные новообразования - malignant tumor	1 (3,6)	1 (5,9)	1,688 [0,099–28,883]	1,000
	- сахарный диабет - diabetes	3 (10,7)	4 (23,5)	2,564 [0,497–13,220]	0,399
	- бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких - bronchial asthma, hronic obstructive pulmonary disease	4 (14,3)	5 (29,4)	2,500 [0,566–11,051]	0,265
	- интерстициальная болезнь легких - interstitial lung disease	1 (3,6)	0	–	–
	- внутриутробная пневмония - intrauterine pneumonia	1 (3,6)	0	–	–
- реконвалесцент бактериально-вирусной инфекции - convalescence of bacterial and viral infection	10 (35,7)	4 (23,5)	1,806 [0,463–7,045]	0,513	

Окончание таблицы 2. Клинические характеристики пациентов кардиохирургического стационара с диагностированной инфекцией *K. pneumoniae*, распределенных с учетом исхода заболевания

Table 2. Clinical characteristics of cardiac surgery hospital patients with *K. pneumoniae* infection according to the outcome of the disease (continued)

Клинические характеристики Clinical characteristics		Количество пациентов с диагностированной инфекцией <i>K. pneumoniae</i> Number of patients diagnosed with <i>K. pneumoniae</i> infection n (%)		Отношение шансов [95% ДИ] Odds ratio [95% CI]	Точный критерий Фишера (p) Fisher's exact test (p-value)
		Выздоровление Convalescence 28 (100)	Летальный исход Fatal outcome 17 (100)		
Тип инфекционного процесса, нозологическая форма Type of infectious process, nosological form	Колонизация Colonization	6 (21,4)	0	-	-
	Активная инфекция, в том числе: Active infection, including:	22 (78,6)	17 (100)		
	- внутрибольничная пневмония - nosocomial pneumonia	17 (60,7)	10 (58,8)	1,082 [0,317–3,604]	1,000
	- инфекция кровотока - infection of the bloodstream	2 (7,1)	4 (23,5)	4,000 [0,646–24,769]	0,179
	- инфекция области хирургического вмешательства - infection of the surgical area	3 (10,7)	3 (17,6)	1,786 [0,317–10,062]	0,666
Осложнения Complications	Осложнения отсутствуют There are no complications	24 (85,7)	2 (11,8)	45,000 [7,321–276,588]	< 0,001
	Осложнения выявлены всего, в том числе: Complications have been identified, including:	4 (14,3)	15 (88,2)		
	- SIRS	0	14 (82,4)	-	-
	- инфекционный эндокардит - infectious endocarditis	1 (3,6)	1 (5,9)	1,688 [0,099–28,883]	1,000
	- внутрибольничная пневмония - nosocomial pneumonia	0	1 (5,9)	-	-
	- инфекция области хирургического вмешательства - infection of the surgical area	2 (7,1)	0	-	-
Форма инфекции The form of infection	Моноинфекция Monoinfection	19 (67,9)	7 (41,2)	3,016 [0,864–10,524]	0,121
	Микст-инфекция Mixed infection	9 (32,1)	10 (58,8)		

генов *prmpA+iucA+peg-344*, маркирующей гипервирулентные варианты (hvKp), были выделены у 10,9% (5/46) пациентов. Клинические источники *K. pneumoniae* с учетом профилей устойчивости к антибиотикам и гипервирулентности показаны в Дополнительной табл. 2. Важно отметить, что в настоящем исследовании был обнаружен один конвергентный изолят *K. pneumoniae* (MDR-hvKp), то есть он одновременно имел множественную лекарственную устойчивость и маркеры гипервирулентности.

У пациентов до 1 года причиной клебсиеллезных инфекций были исключительно клоны MDR-сKp. Вероятность заражения такими штаммами у женщин оказалась в 1,5 раза выше,

чем у мужчин (60,5% vs 39,5%). Общая продолжительность пребывания пациентов в стационаре, которая коррелирует с тяжестью заболевания, была в 1,7 раз выше у пациентов, инфицированных MDR сKp, чем при инфицировании hvKp (36±18 vs 21±2 койко-дней). Аналогично, длительное пребывание в ОАиР (более 48 ч) было преимущественно ассоциировано с инфекцией, вызванной MDR-сKp (ОШ = 4,444, 95% ДИ: 0,454–43,539). Только у лиц с инфекцией, вызванной MDR-сKp, были зафиксированы осложнения: синдром системного воспалительного ответа, инфекции кровотока и инфекции в области хирургического вмешательства. Летальные исходы были подтверждены только

Таблица 3. Общеклинические характеристики пациентов кардиохирургического стационара, инфицированных гипервирулентными и классическими *K. pneumoniae*

Table 3. Clinical characteristics of cardiac surgery hospital patients infected with hvKp and MDR-cKp

Клинические характеристики Clinical characteristics		Количество инфицированных пациентов The number of infected patients n (%)		Отношение шансов [95% ДИ] Odds ratio [95% CI]	Точный критерий Фишера (p) Fisher's exact test (p-value)
		hvKp, 5 (100)	MDR-cKp, 38 (100)		
Пол Gender	Мужской Male	5 (100)	15 (39,5)	-	-
	Женский Female	0	23 (60,5)		
Возраст	< 1 года < 1 year	0	5 (13,2)	2,063 [0,308–13,812]	0,640
	25–64 лет 25–64 year	3 (60)	16 (42,1)		
	65–85 лет 65–85 year	2 (40)	22 (57,9)		
Длительность пребывания в отделении реанимации Duration of stay in the intensive care unit	Без/до 48 ч Without/up to 48 hours	4 (80)	18 (47,4)	4,444 [0,454–43,539]	0,345
	Более 48 ч More than 48 hours	1 (20)	20 (52,6)		
Тип инфекционного процесса, нозологическая форма Type of infectious process, nosological form	Колонизация Colonization	0	5 (13,2)	-	-
	Активная инфекция, в том числе: Active infection, including:	5 (100)	33 (86,8)		
	- внутрибольничная пневмония - nosocomial pneumonia	4 (80)	22 (57,9)	2,909 [0,296–28,556]	0,632
	- инфекция кровотока - infection of the bloodstream	0	6 (15,8)	-	-
	- инфекция области хирургического вмешательства - infection of the surgical area	1 (20)	5 (13,2)	1,650 [0,152–17,912]	0,547
Осложнения Complications	Осложнения отсутствуют There are no complications	5 (100)	19 (50)	-	-
	Осложнения выявлены всего, в том числе: Complications have been identified, including:	0	19 (50)		
	- SIRS	0	14 (36,8)		
	- инфекционный эндокардит - infectious endocarditis	0	2 (5,3)		
	- внутрибольничная пневмония - nosocomial pneumonia	0	1 (2,6)		
	- инфекция области хирургического вмешательства - infection of the surgical area	0	2 (5,3)		

Окончание таблицы 3. Общеклинические характеристики пациентов кардиохирургического стационара, инфицированных гипервирулентными и классическими *K. pneumoniae*

Table 3. Clinical characteristics of cardiac surgery hospital patients infected with hvKp and MDR-cKp

Клинические характеристики Clinical characteristics		Количество инфицированных пациентов The number of infected patients n (%)		Отношение шансов [95% ДИ] Odds ratio [95% CI]	Точный критерий Фишера (p) Fisher's exact test (p-value)
		hvKp, 5 (100)	MDR-cKp, 38 (100)		
Исход Outcome	Выздоровление Convalescence	5 (100)	21 (55,3)	–	–
	Летальный исход Fatal outcome	0	17 (44,7)		
Медиана продолжительности пребывания в стационаре, койко-дней Median length of hospital stay, patient days		21±2	36±18	–	0,279 (t-тест)

в группе пациентов с инфекцией MDR-cKp, а выздоровление в этой группе наблюдалось у 55,3% больных. hvKp выделяли только от пациентов с клиническими признаками инфекции, преимущественно внутрибольничной пневмонии. В этой группе были зафиксированы только благополучные исходы (табл. 3).

Обсуждение

Высокая частота инфекционных осложнений после операций на сердце и сосудах, выполняемых в условиях искусственного кровообращения, отмечается во многих отечественных и зарубежных публикациях [5, 23]. Наиболее распространенными видами ИСМП в порядке частоты убывания являются: пневмонии, инфекции области хирургического вмешательства, инфекции мочевыводящих путей и инфекции кровотока. Последние вызывают наиболее высокую послеоперационную смертность, приводят к более длительной госпитализации и дополнительным расходам [41]. В структуре возбудителей ИСМП, выделенных от пациентов кардиохирургического профиля, *K. pneumoniae* занимают доминирующее положение [5, 6, 41]. В данной работе мы оцениваем значимость общеклинических данных пациентов и биологических свойств возбудителя в течении и исходе ИСМП пациентов крупного кардиохирургического стационара. Последнее особенно актуально, так как роль hvKp в возникновении инфекционных осложнений в кардиохирургии остается недостаточно изученной. Кроме того, мы представляем динамику случаев колонизации и нозокомиальной инфекции, продолжительность пребывания пациентов в отделениях кардиохирургического стационара, анализируя эпидемиологические связи.

Возникновение, течение и исход любого инфекционного процесса определяется различ-

ными факторами, связанными, в первую очередь, с самим макроорганизмом (пол, возраст, иммунный статус и др.), что особенно важно в случае кардиохирургических больных с исходно более тяжелым коморбидным фоном [7]. Так, возраст ≥ 65 лет является независимым фактором риска госпитальной смертности больных пневмонией [40]. Исследования показали, что у пациентов, средний возраст которых превышал 60 лет, 17,2% всех внебольничных пневмоний и 6,5–11,8% всех внутрибольничных пневмоний были вызваны *K. pneumoniae* [29, 38]. Известно, что пожилые люди имеют высокий риск летального исхода от инфекций, вызванных антибиотикоустойчивыми *K. pneumoniae* [42]. Показано, что женщины имеют повышенный риск краткосрочной смертности после операции на сердце по сравнению с мужчинами [8, 20]. Сопутствующие патологии: диабет, злокачественные новообразования, заболевания печени и желчного пузыря, хроническая обструктивная болезнь легких, почечная недостаточность и ожирение являются дополнительными факторами риска неблагоприятного исхода ИСМП после кардиохирургических операций [41]. Результаты нашего исследования согласуются с вышеописанными данными: частота летального исхода среди пациентов женского пола была почти в 2 раза выше, чем среди лиц мужского пола, среди лиц старше 65 лет — в 4,6 раза, чем у больных моложе 65 лет, для пациентов с БА, ХОБЛ и сахарным диабетом — в 2,5–2,6 раз, при злокачественных новообразованиях и у реконвалесцентов БВИ — в 1,7–1,8 раз. Сроки пребывания пациента в отделении анестезиологии и реанимации после операционного вмешательства зависят от тяжести заболевания и коррелируют со смертностью [30]. Действительно, по нашим данным, среди всех случаев летальных исходов 82,4% пришлось на пациентов, длительно

(более 48 ч) находившихся в ОАиР. Ранее на основании молекулярно-генетического типирования выявлен разнообразный штаммовый пейзаж *K. pneumoniae*, которые формировали отдельные клональные линии и распределились в двух основных кластерах, при этом 24% культур распределились в 4 геномогруппы идентичных изолятов. Ранее нами было доказано, что общим обстоятельством формирования связанных случаев ГСИ клебсиеллезной этиологии в отдельных эпидемических очагах являлось одновременное пребывание заболевших в ОАиР [42]. В проведенном исследовании анализ эпидемиологических связей показал, что штаммы циркулировали между разными отделениями, и во всех случаях одним из элементов эпидцепочки являлось ОАиР.

Широкое использование в клинической практике антибактериальных препаратов привело к росту устойчивости *K. pneumoniae*. В исследовании, проведенном Брусиной Е.Б. и соавт., показано, что 74,45% штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в кардиохирургии, были мультирезистентными, 56,93% — с расширенным спектром резистентности, 8,11% — панрезистентными [5]. Наличие MDR/карбапенморезистентности у возбудителей инфекции является независимым фактором риска генерализованной инфекции и смертности больных с ИСМП [39]. Так, несколько исследований продемонстрировали, что пациенты, инфицированные карбапенмостойчивыми культурами, дольше пребывали в больнице и имели более высокую смертность, чем пациенты, инфицированные чувствительными клебсиеллами [19, 36]. По данным Баранцевич Н.Е. (2023), среди 398 пациентов с клебсиеллезным сепсисом 30-дневная летальность составила 50,5%. При этом резистентной к карбапенемам *K. pneumoniae* были обусловлены 56,3% эпизода сепсиса, летальность составила 58,5% [2]. Группой Chen I.R. (2021) показано, что 14-дневная смертность пациентов с легочной инфекцией от MDR-сКр составила 23,2%, а внутрибольничная смертность — 34,8% [16]. В нашем исследовании тяжелое течение инфекции и летальные исходы были подтверждены только в группе пациентов с инфекцией MDR-сКр.

Большинство госпитальных инфекций вызываются MDR-сКр у лиц с ослабленным иммунитетом, однако отдельные исследования свидетельствуют о внутрибольничном инфицировании пациентов hvКр [1, 22, 24]. Частота встречаемости в госпиталях этих микроорганизмов пока не велика, тем не менее обнаруживаются MDR-hvКр штаммы [1, 11, 37]. Первое сообщение о выделении в 2016 г. конвергентной *K. pneumoniae* появилось в 2018 г. [24], в настоящем исследовании мы сообщаем еще об одном случае обнаружения конвергентного штамма

в России. Однако важно отметить, что ни в одном случае представители гипервирулентного патотипа не были ассоциированы с летальным исходом. В работе, представленной Chen I.R. и соавт. (2022), штаммы с MDR составили 6,2% hvКр, при этом авторы подчеркивают, что гипервирулентный патотип коррелировал с низкой 28-дневной смертностью [17]. Интересно, что авторы оценивали гипервирулентность только по 2 маркерным генам — *rmpA* или *rmpA2*, что сегодня является недостаточным. И хотя консенсус относительно маркеров гипервирулентного патотипа *K. pneumoniae* еще не достигнут, известно, что гены *rmpA*, *rmpA2*, *tagA* и *iucA* достоверно связаны с hvКр [1]. В исследовании Kochan T.J. и соавт. (2023) показано, что большинство конвергентных изолятов *K. pneumoniae* оказались менее вирулентными, чем штаммы hvКр в модели пневмонии *in vivo*. Авторы заключают, что изоляты MDR-hvКр вряд ли могут вызывать инфекции, описываемые обычно для hvКр, но требуются дальнейшие клинические исследования конвергентных культур [26].

Заключение

Проведено клиническое и бактериологическое исследование случаев колонизации и госпитальной инфекции клебсиеллезной этиологии у больных кардиохирургических профиля. На фоне исходно тяжелого коморбидного фона пациентов наиболее значимыми факторами риска неблагоприятного исхода оказались возраст старше 65 лет, длительность пребывания в ОАиР (более 48 ч) и наличие сопутствующего заболевания. Летальный исход фиксировали чаще у женщин и при септической форме заболевания. Шанс летального исхода оказался в 3 раза выше среди пациентов с микст-инфекцией, чем в группе лиц с инфекцией, вызванной только *K. pneumoniae*. В госпитальном периоде более значимым биологическим фактором риска тяжести нозокомиальной инфекции иммунокомпрометированных пациентов оказалась множественная лекарственная устойчивость *K. pneumoniae*, чем гипервирулентность. Общая продолжительность пребывания пациентов в стационаре была в 1,7 раз выше у пациентов, инфицированных MDR-сКр, чем при инфицировании hvКр. Дополнительные очаги инфекции (инфекции кровотока), как и летальные исходы, были подтверждены только в группе пациентов с инфекцией MDR-сКр. Важно отметить, что в настоящем исследовании был обнаружен один конвергентный изолят *K. pneumoniae* (MDR-hvКр). Нельзя исключить, что в условиях медицинских организаций, в том числе

в кардиохирургических стационарах, частота конвергенции гипервирулентности и устойчивости к противомикробным препаратам будет нарастать, что может представлять серьезную проблему в лечении пациентов.

Дополнительная информация

Дополнительные материалы доступны по ссылке: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-NKP-17665>

Список литературы/References

1. Агеевец В.А., Агеевец И.В., Сидоренко С.В. Конвергенция множественной резистентности и гипервирулентности у *Klebsiella pneumoniae* // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 450–460. [Ageevets V.A., Ageevets I.V., Sidorenko S.V. Convergence of multiple resistance and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 450–460. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-COM-1825
2. Баранцевич Н.Е., Баранцевич Е.П. Терапия сепсиса, обусловленного резистентной к карбапенемам *Klebsiella pneumoniae* у онкогематологических пациентов в современных условиях // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. 2022. № 4. С. 383–387. [Barantsevich N.E., Barantsevich E.P. Antimicrobial therapy of sepsis caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in patients with hematological malignancies. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2022, vol. 4, pp. 383–387. (In Russ.)] doi: 10.36488/cm.2022.4.383-387
3. Кузнецова М.В., Сергеев В.И., Михайловская В.С., Кудрявцева Л.Г., Пегушина О.Г. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в условиях кардиохирургического стационара // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 1. С. 103–114. [Kuznetsova M.V., Sergevin V.I., Mikhailovskaya V.S., Kudryavtseva L.G., Pegushina O.G. Microbiological and molecular genetic characteristics of *Klebsiella pneumoniae* isolates, extracted under conditions of cardiac surgery hospital. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2024, vol. 14, no. 1, pp. 103–114. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MAM-15631
4. Новикова И.Е., Садеева З.З., Алябьева Н.М., Самойлова Е.А., Карасева О.В., Янющкина О.Г., Лазарева А.В. Антибиотикорезистентность и вирулентность карбапенем-устойчивых штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей в реанимационных и хирургических отделениях // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2023. Т. 100, № 4. С. 321–332. [Novikova I.E., Sadeeva Z.Z., Alyabyeva N.M., Samoylova E.A., Karaseva O.V., Yanyushkina O.G., Lazareva A.V. Antimicrobial resistance and virulence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from children in intensive care and surgical units. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2023, vol. 100, no. 4, pp. 322–332. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-373
5. Садовников Е.Е., Поцелуев Н.Ю., Брусина Е.Б., Барбараш О.Л. Эпидемиологические особенности инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в кардиохирургии // Фундаментальная и клиническая медицина. 2023. Т. 8, № 4. С. 73–84. [Sadovnikov E.E., Potseluev N.Y., Brusina E.B., Barbarash O.L. Healthcare-associated infections in cardiac surgery: epidemiological features. *Fundamentalnaya i klinicheskaya meditsina = Fundamental and Clinical Medicine*, 2023, vol. 8 no. 4, pp. 73–84. (In Russ.)] doi: 10.23946/2500-0764-2023-8-4-73-84
6. Сергеев В.И., Кудрявцева Л.Г., Пегушина О.Г., Волкова Э.О., Решетникова Н.И. Групповая заболеваемость гнойно-септическими инфекциями клебсиеллезной этиологии пациентов кардиохирургического стационара // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2020. Т. 19, № 1. С. 90–98. [Sergevin V.I., Kudryavtseva L.G., Pegushina O.G., Volkova E.O., Reshetnikova N.I. Group incidence by purulent-septic infections of klebsiellous etiology in cardiosurgical patients. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*, 2020, vol. 19, no. 1, pp. 90–98. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-1-90-98
7. Сергеев В.И., Кудрявцева Л.Г., Золотухина А.И. Частота и факторы риска гнойно-септических инфекций у взрослых после различных видов операций на открытом сердце // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2020. Т. 19, № 5. С. 34–40. [Sergevin V.I., Kudryavtseva L.G., Zolotukhina A.I. Frequency and risk factors of purulent septic infection among adults after different types of an open heart operations. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*, 2020, vol. 19, no. 5, pp. 34–40. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-5-34-40
8. Тарасов Р.С., Казанцев А.Н., Иванов С.В., Головин А.А., Бурков Н.Н., Ануфриев А.И., Зинец М.Г., Барбараш Л.С. Факторы риска неблагоприятного исхода различных хирургических стратегий лечения пациентов с сочетанным поражением коронарного русла и сонных артерий в 30-дневном послеоперационном периоде // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2018. Т. 22, № 1. С. 36–48. [Tarasov R.S., Kazantsev A.N., Ivanov S.V., Golovin A.A., Burkov N.B., Anoufrieve A.I., Zinets M.G., Barbarash L.S. Risk factors of adverse outcomes of various interventions when treating patients with concomitant lesions of the coronary bed and carotid arteries in 30-day follow-up. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*, 2018, vol. 22, no. 1, pp. 36–48. (In Russ.)] doi: 10.21688/1681-3472-2018-1-36-48
9. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Подопригора И.В., Шагин Д.А. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. 2020. Т. 22, № 1. С. 4–19. [Chebotar I.V., Bocharova Yu.A., Podoprighora I.V., Shagin D.A. The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, vol. 22, no. 1, pp. 4–19. (In Russ.)] doi: 10.36488/cm.2020.1.4-19
10. Alharbi M.T., Almuhayawi M.S., Nagshabandi M.K., Tarabulsi M.K., Alruhaili M.H., Gattan H.S., Al Jaouni S.K., Selim S., Alanazi A., Alruwaili Y., Zaid S.M., Faried O.A. Antimicrobial resistance pattern, pathogenicity and molecular properties of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hvKp) among hospital-acquired infections in the intensive care unit (ICU). *Microorganisms*, 2023, vol. 11: 661. doi: 10.3390/microorganisms11030661

11. Ali M.R., Yang Y., Dai Y., Lu H., He Z., Li Y., Sun B. Prevalence of multidrug-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* without defined hypervirulent biomarkers in Anhui, China: a new dimension of hypervirulence. *Front. Microbiol.*, 2023, vol. 14, doi: 10.3389/fmicb.2023.1247091
12. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. World Health Organization, Geneva, 2014. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1
13. Beccaria L.M., Cesarino C.B., Werneck A.L., Góes N.C., Dos Santos K.S., Machado M.D.N. Postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery at a teaching hospital. *Arq. Ciênc. Saúde*, 2015, vol. 22, no. 3, pp. 37–41. doi: 10.17696/2318-3691.22.3.2015.216
14. Bhatt P.J., Ali M., Rana M., Patel G., Sullivan T., Murphy J., Pinney S., Anyanwu A., Huprikar S., Taimur S. Infections due to multidrug-resistant organisms following heart transplantation: epidemiology, microbiology, and outcomes. *Transpl. Infect. Dis.*, 2020, vol. 22: e13215. doi: 10.1111/tid.13215
15. Chang D., Sharma L., Dela Cruz C.S., Zhang D. Clinical Epidemiology, risk factors, and control strategies of *Klebsiella pneumoniae* infection. *Front. Microbiol.*, 2021, vol. 12: 750662. doi: 10.3389/fmicb.2021.750662
16. Chen I.R., Huang P.H., Wu P.F., Wang F.D., Lin Y.T. Clinical characteristics and outcomes of 56 patients with pneumonia caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, 2021, vol. 25, pp. 326–330. doi: 10.1016/j.jgar.2021.03.028
17. Chen I.R., Lin S.N., Wu X.N., Chou S.H., Wang F.D., Lin Y.T. Clinical and microbiological characteristics of bacteremic pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2022, vol. 23, no. 12: 903682. doi: 10.3389/fcimb.2022.903682
18. Chen J., Zhang H., Liao X. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Drug. Resist.*, 2023, vol. 11, no. 16, pp. 5243–5249. doi: 10.2147/IDR.S418523
19. Debby B.D., Ganor O., Yasmin M., David L., Nathan K., Ilana T., Dalit S., Smollan G., Galia R. Epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* colonization in an intensive care unit. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2012, vol. 31, no. 8, pp. 1811–1817. doi: 10.1007/s10096-011-1506-5
20. Dixon L.K., Dimagli A., Di Tommaso E., Sinha S., Fudulu D.P., Sandhu M., Benedetto U., Angelini G.D. Females have an increased risk of short-term mortality after cardiac surgery compared to males: Insights from a national database. *J. Card. Surg.*, 2022, vol. 37, no. 11, pp. 3507–3519. doi: 10.1111/jocs.16928
21. Du Q., Pan F., Wang C., Yu F., Shi Y., Liu W., Li Z., He P., Han D., Zhang H. Nosocomial dissemination of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* with high-risk clones among children in Shanghai. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2022, vol. 12: 984180. doi: 10.3389/fcimb.2022.984180
22. El-Mahdy R., El-Kannishy G., Salama H. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* as a hospital-acquired pathogen in the intensive care unit in Mansoura, Egypt. *Germs*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 140–146. doi: 10.18683/germs.2018.1141
23. Ferreira G.B., Donadello J.C.S., Mulinari L.A. Healthcare-associated infections in a cardiac surgery service in Brazil. *Braz. J. Cardiovasc. Surg.*, 2020, vol. 35, no. 5, pp. 614–618. doi: 10.21470/1678-9741-2019-0284
24. Gu D., Dong N., Zheng Z., Lin D., Huang M., Wang L., Wai-Chi Chan E., Shu L., Yu J., Zhang R., Chen S. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *Lancet Infect. Dis.*, 2018, vol. 18, no. 1, pp. 37–46. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30489-9
25. Ko R.E., Huh K., Kim D.H., Na S.J., Chung C.R., Cho Y.H., Jeon K., Suh G.Y., Yang J.H. Nosocomial infections in in-hospital cardiac arrest patients who undergo extracorporeal cardiopulmonary resuscitation. *PLoS One*, 2020, vol. 15: e0243838. doi: 10.1371/journal.pone.0243838
26. Kochan T.J., Nozick S.H., Valdes A., Mitra S.D., Cheung B.H., Lebrun-Corbin M., Medernach R.L., Vessely M.B., Mills J.O., Axline C.M.R., Nelson J.A., VanGosen E.M., Ward T.J., Ozer E.A., van Duin D., Chen L., Kreiswirth B.N., Long S.W., Musser J.M., Bulman Z.P., Wunderink R.G., Hauser A.R. *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates with features of both multidrug-resistance and hypervirulence have unexpectedly low virulence. *Nature Commun.*, 2023, vol. 14, no. 1: 7962. doi: 10.1038/s41467-023-43802-1
27. Lazareva I., Ageevets V., Sopova J. Lebedeva M., Starkova P., Likholetova D., Lebedeva M., Gostev V., Moiseenko V., Egorenkov V., Navatskaya A., Mitroshina G., Myasnikova E., Tsvetkova I., Lobzin Y., Sidorenko S. The emergence of hypervirulent blaNDM-1-positive *Klebsiella pneumoniae* sequence type 395 in an oncology hospital. *Infect. Genet. Evol.*, 2020, vol. 85: 104527. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104527
28. Liu C., Du P., Xiao N., Ji F., Russo T.A., Guo J. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* is emerging as an increasingly prevalent *K. pneumoniae* pathotype responsible for nosocomial and healthcare-associated infections in Beijing, China. *Virulence*, 2020, vol. 11, no. 1, pp. 1215–1224. doi: 10.1080/21505594.2020.1809322
29. Magill S.S., Edwards J.R., Bamberg W., Beldavs Z.G., Dumyati G., Kainer M.A., Lynfield R., Maloney M., McAllister-Hollod L., Nadle J., Ray S.M., Thompson D.L., Wilson L.E., Fridkin S.K. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *Engl. J. Med.*, 2014, vol. 370, pp. 1198–1208. doi: 10.1056/NEJMoa1306801
30. Mazzeffi M., Gammie J., Taylor B., Cardillo S., Haldane-Lutterodt N., Amoroso A., Harris A., Thom K. Healthcare-associated infections in cardiac surgery patients with prolonged intensive care unit stay. *Ann. Thorac. Surg.*, 2017, vol. 103, no. 4, pp. 1165–1170. doi: 10.1016/j.athoracsur.2016.12.041
31. Pierce G.N., Resch C., Mourin M., Dibrov P., Dibrov E., Ravandi A. Bacteria and the growing threat of multidrug resistance for invasive cardiac interventions. *Rev. Cardiovasc. Med.*, 2022, vol. 23, no. 1: 015. doi: 10.31083/j.rcm2301015
32. Podschun R., Ullmann U. *Klebsiella* spp. as Nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin. Microbiol. Rev.* 1998, vol. 11, no. 4, pp. 589–603. doi: 10.1128/CMR.11.4.589
33. Poerio N., Olimpieri T., Henrici De Angelis L., De Santis F., Thaller M.C., D'Andrea M.M., Fraziano M., Fighting MDR-*Klebsiella pneumoniae* infections by a combined host- and pathogen-directed therapeutic approach. *Front Immunol.*, 2022, vol. 13: 835417. doi: 10.3389/fimmu.2022.835417
34. Pu D., Zhao J., Chang K., Zhuo X., Cao B. “Superbugs” with hypervirulence and carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*: the rise of such emerging nosocomial pathogens in China. *Sci. Bull. (Beijing)*, 2023, vol. 68, no. 21, pp. 2658–2670. doi: 10.1016/j.scib.2023.09.040

35. Russo T.A., Marr C.M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2019, vol. 32, no. 3: e00001-19. doi: 10.1128/CMR.00001-19
36. Schwaber M.J., Klarfeld-Lidji S., Navon-Venezia S., Schwartz D., Leavitt A., Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, vol. 52, no. 3, pp. 1028–1033. doi: 10.1128/aac.01020-07
37. Starkova P., Lazareva I., Avdeeva A., Sulian O., Likholetova D., Ageevets V., Lebedeva M., Gostev V., Sopova J., Sidorenko S. Emergence of hybrid resistance and virulence plasmids harboring new delhi metallo-beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* in Russia. *Antibiotics (Basel)*, 2021, vol. 10, no. 6: 691. doi: 10.3390/antibiotics10060691
38. Teramoto S., Yoshida K., Hizawa N. Update on the pathogenesis and management of pneumonia in the elderly-roles of aspiration pneumonia. *Respir. Investig.*, 2015, vol. 53, no. 5, pp. 178–184. doi: 10.1016/j.resinv.2015.01.003
39. Tumbarello M., Treccarichi E.M., De Rosa F.G., Giannella M., Giacobbe D.R., Bassetti M., ISGRI-SITA (Italian Study Group on Resistant Infections of the Società Italiana Terapia Antinfettiva). Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2015, vol. 70, pp. 2133–2143. doi: 10.1093/JAC/DKV086
40. Yin Y., Zhao C., Li H., Jin L., Wang Q., Wang R., Zhang Y., Zhang J., Wang H. CARES network. Clinical and microbiological characteristics of adults with hospital-acquired pneumonia: a 10-year prospective observational study in China. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2021, vol. 40, no. 4, pp. 683–690. doi: 10.1007/s10096-020-04046-9
41. Zardi E.M., Chello M., Zardi D.M., Barbato R., Giacinto O., Mastroianni C., Lusini M. Nosocomial extracardiac infections after cardiac surgery. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 2022, vol. 24, no. 11, pp. 159–171. doi: 10.1007/s11908-022-00787-0
42. Zhou C., Sun L., Li H., Huang L., Liu X. Risk factors and mortality of elderly patients with hospital-acquired pneumonia of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *Infect. Drug. Resist.*, 2023, vol. 20, no. 16, pp. 6767–6779. doi: 10.2147/IDR.S431085

Авторы:

Кузнецова М.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиала ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия;

Михайловская В.С., инженер лаборатории молекулярной биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиала ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия; магистр АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория «Сириус», Россия;

Кудрявцева Л.Г., к.м.н., врач-эпидемиолог, зав. эпидемиологическим отделом Федерального центра сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова МЗ России, г. Пермь, Россия;

Сергеев В.И., д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии и гигиены ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера МЗ РФ, г. Пермь, Россия.

Authors:

Kuznetsova M.V., DSc (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation;

Mihailovskaya V.S., Engineer, Laboratory of Molecular Biotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation; Master, Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Russian Federation;

Kudryavtseva L.G., PhD (Medicine), Head of the Epidemiological Department, Doctor-Epidemiologist, Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov, Perm, Russian Federation;

Sergevni V.I., DSc (Medicine), Professor, Department of Epidemiology and Hygiene, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation.

ЯВЛЯЮТСЯ ЛИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫЕ ГРУППОЙ РИСКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ И ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ COVID-19?

В.И. Сергевнин¹, М.В. Рожкова²

¹ ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь, Россия

² ГБУЗ ПК Пермский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными болезнями, г. Пермь, Россия

Резюме. Мнения относительно частоты и тяжести клинического течения COVID-19 у ВИЧ-инфицированных по сравнению с ВИЧ-негативными противоречивы. Цель работы — оценить заболеваемость и тяжесть клинического течения COVID-19 у ВИЧ-инфицированных в сравнении с общей популяцией населения за 2020–2023 гг. Изучен информационный ресурс учета COVID-19 Управления Роспотребнадзора Пермского края и региональной информационно-аналитической медицинской системы «Единая информационная система здравоохранения Пермского края» за 2020–2023 гг. Степень иммунодефицита и вирусной нагрузки (ВН) у ВИЧ-инфицированных (2459 и 2364 больных соответственно) учитывали по результатам обследований, проведенных в течение 6 мес. до постановки диагноза COVID-19 на базе лаборатории Пермского краевого центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. Показатели заболеваемости среди ВИЧ-инфицированных рассчитывали на 100 тыс. ЛЖВ, среди населения — на 100 тыс. жителей. Сравнение показателей заболеваемости осуществляли с использованием критерия Стьюдента. Оценку значимости различий частоты возникновения COVID-19 в зависимости от уровня иммунодефицита и ВН по данным ограниченных по объему выборочных исследований проводили с помощью непараметрического критерия согласия χ^2 и точного критерия Фишера. Результаты показали, что заболеваемость COVID-19 среди разных возрастных и социальных групп ЛЖВ в 1,3–2,6 раз ниже, чем среди аналогичных групп ВИЧ-негативного населения. Пониженный уровень заболеваемости COVID-19 регистрируется преимущественно в группе больных с относительно незначительными нарушениями иммунитета и невысокими показателями ВН. В группе ВИЧ-инфицированных с низким уровнем CD4-лимфоцитов и высокой ВН заболеваемость COVID-19 увеличивается. При этом COVID-19 у ВИЧ-инфицированных, как и у ВИЧ-негативных, протекает преимущественно в легкой форме. При выраженном иммунодефиците и высокой ВН у ВИЧ-инфицированных доля среднетяжелых и тяжелых форм COVID-19 увеличивается.

Ключевые слова: COVID-19, ВИЧ-инфицированные, ВИЧ-негативные, заболеваемость, тяжесть клинического течения, вирусная нагрузка, CD4-лимфоциты.

Адрес для переписки:

Рожкова Марина Владимировна
614990, Россия, г. Пермь, ул. Свиязева, 21,
Пермский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД
и инфекционными заболеваниями.
Тел.: 8 950 458-47-02.
E-mail: rozhkovamary@yandex.ru

Contacts:

Marina V. Rozhkova
614990, Russian Federation, Perm, Sviyazeva str., 21,
Perm Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and
Infectious Diseases.
Phone: +7 950 458-47-02.
E-mail: rozhkovamary@yandex.ru

Для цитирования:

Сергевнин В.И., Рожкова М.В. Являются ли ВИЧ-инфицированные группой риска заболеваемости и тяжелого течения COVID-19? // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1131–1138.
doi: 10.15789/2220-7619-AHP-17632

Citation:

Sergevnin V.I., Rozhkova M.V. Are HIV-infected people at risk group for COVID-19 morbidity and severe course? // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1131–1138.
doi: 10.15789/2220-7619-AHP-17632

ARE HIV-INFECTED PEOPLE AT RISK GROUP FOR COVID-19 MORBIDITY AND SEVERE COURSE?Sergevnin V.I.^a, Rozhkova M.V.^b^a Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russian Federation^b Perm Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Perm, Russian Federation

Abstract. Opinions regarding the frequency and severity of COVID-19 clinical course in HIV-infected vs. HIV-negative people are controversial. The study was aimed to assess the incidence and severity of COVID-19 clinical course in HIV-infected people in comparison with the general population in the years 2020–2023. The information resource COVID-19 accounting of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in Perm Region and Regional information and analytical medical system “Unified Health Care Informational System in Perm Region” over 2020–2023 has been studied. The degree of immunodeficiency and viral load (VL) in HIV-infected patients (2459 and 2364 patients, respectively) were taken into account on the basis of the data from medical examinations conducted during 6 months before COVID-19 diagnosis. The incidence rate among HIV-infected people was calculated per 100 thousand of people living with HIV (PLHIV), among the general population — per 100 thousand of residents. The comparison of morbidity rates was carried out using the Student’s *t*-test. The significance of differences in COVID-19 incidence rate depending on the level of immunodeficiency and VL according to data from limited sample studies was assessed using the distribution-free test χ^2 and Fischer’s exact test. The results showed that COVID-19 incidence among different age and social groups of PLHIV is 1.3–2.6 times lower than among similar groups in HIV-negative cohort. The reduced COVID-19 incidence is recorded mainly in patients with relatively minor immune disorders and low VL. COVID-19 incidence increases in HIV-infected people with low CD4 lymphocyte count and high VL. At the same time, COVID-19 in HIV-infected as well as in HIV-negative people occurs mainly in a mild form. With severe immunodeficiency and high VL in HIV-infected people, the proportion of moderate and severe clinical forms of COVID-19 increases.

Key words: COVID-19, HIV-infected, HIV-negative, morbidity, severity of clinical course, viral load, CD4 lymphocytes.

Введение

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), зарегистрированная с 2020 г., возникла на фоне продолжающейся пандемии ВИЧ-инфекции. Теоретически можно предположить, что одной из групп риска заболеваемости и тяжелого клинического течения COVID-19 являются люди, живущие с ВИЧ (ЛЖВ). Обеспокоенность повышенным риском заболеваемости и тяжелого течения COVID-19 среди ЛЖВ может быть основана на том, что ВИЧ-инфекция связана с аномальными гуморальными и Т-клеточными иммунными ответами, что приводит к повышенной восприимчивости к многочисленным оппортунистическим инфекциям [21]. Однако до настоящего времени мнения относительно частоты COVID-19 у ВИЧ-инфицированных и тяжести коинфекции по сравнению с ВИЧ-негативными противоречивы.

Некоторые исследователи указывают на повышенный уровень заболеваемости COVID-19 среди ВИЧ-инфицированных. Так, сообщается, что распространенность COVID-19 у госпитализированных ВИЧ-инфицированных составила 1,2%, что вдвое превысило аналогичный показатель (0,6%) среди населения в целом [25]. По результатам интернет-опроса среди респондентов, назвавших себя ЛЖВ, четверть обследованных на COVID-19 (23,5%) указали, что у них были выявлены маркеры COVID-19, что в 4 раза

превысило аналогичный показатель у ВИЧ-негативных респондентов (6,5%) [7]. Другие авторы указывают, что заболеваемость COVID-19 среди ЛЖВ сопоставима с общей заболеваемостью инфекцией среди населения [1, 3, 15, 16]. Наконец есть сообщения о том, заболеваемость COVID-19 среди ЛЖВ ниже, чем среди ВИЧ-негативных [19, 20]. В одном из исследований в Испании авторы пришли к заключению, что стандартизированный уровень заболеваемости COVID-19 среди ЛЖВ на 67% ниже, чем среди населения в целом [18].

Что касается тяжести течения коинфекции, то есть данные о том, что ЛЖВ являются группой риска тяжелых проявлений COVID-19 [13, 17]. Однако в научной литературе представлены и другие мнения. Показано, что нет разницы в частоте летальных исходов больных коинфекцией по сравнению с общей популяцией населения [5, 12, 14, 22]. По данным А. Inciartea и соавт. [18], уровень летальности при COVID-19 у ЛЖВ (4%) аналогичен тому, который регистрировался среди населения в целом. Более того, некоторые авторы не выявили связи между тяжестью заболевания COVID-19 и подавлением вируса или уровнем CD4 у ЛЖВ [11]. Однако в нескольких тематических исследованиях предполагается, что группой высокого риска тяжелого течения COVID-19 являются больные лишь с поздней стадией ВИЧ-инфекции [6].

Нами ранее были опубликованы результаты оценки распространенности и тяже-

сти COVID-19 среди ВИЧ-инфицированных за 2020 г. [2]. Прошло 3 года. Появились новые данные, что и обусловило целесообразность их публикации.

Цель работы — оценить заболеваемость и тяжесть клинического течения COVID-19 у ВИЧ-инфицированных в сравнении с общей популяцией населения за 2020–2023 гг.

Материалы и методы

Изучен информационный ресурс учета COVID-19 Управления Роспотребнадзора Пермского края и региональной информационно-аналитической медицинской системы «Единая информационная система здравоохранения Пермского края» за 2020–2023 гг. Учитывали клинически выраженные случаи COVID-19 (код по МКБ U07.1 «Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус идентифицирован») у ВИЧ-инфицированных и населения без ВИЧ-инфекции. Показатели заболеваемости среди ВИЧ-инфицированных рассчитывали на 100 тыс. ЛЖВ, среди населения — на 100 тыс. жителей.

Степень иммунодефицита и вирусной нагрузки (ВН) у ВИЧ-инфицированных (2459 и 2364 больных соответственно) учитывали по результатам обследований, проведенных на базе лаборатории Пермского краевого центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями в течение 6 мес. до постановки диагноза COVID-19. Иммунодефицит оценивали по количеству CD4-лимфоцитов стандартным методом (проточная цитофлуориметрия) с помощью систем для проточного цитофлуориметра »BD FACSCalibur». ВН изучали путем детекции концентрации РНК ВИЧ в крови методом полимеразной цепной реакции на автоматическом анализаторе «Abbott m2000rt» с автоматической станцией пробоподготовки «Abbott m 2000 sp».

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «WinPepi» (PEPI-for-Windows), версия 11.65 (автор профессор Joe Abramson, Израиль). Сравнение показателей заболеваемости осуществляли с использованием критерия Стьюдента. Оценку значимости различий частоты возникновения COVID-19 в зависимости от уровня иммунодефицита и ВН по данным ограниченных по объему выборочных исследований проводили с помощью непараметрического критерия согласия χ^2 и точного критерия Фишера.

Результаты

Оценка заболеваемости COVID-19 среди населения Пермского края показала, что за 2020–2023 гг. среди ВИЧ-инфицированных было зарегистрировано 3272 случаев заболевания новой коронавирусной инфекцией. Среди жителей, не имеющих ВИЧ-инфекции, было диагностировано 499 507 клинически выраженных случаев COVID-19. Показатель заболеваемости COVID-19 ВИЧ-инфицированных ($25,5 \pm 0,4$ на 1000) оказался в 1,9 раз ниже, чем среди ВИЧ-негативных жителей ($48,7 \pm 0,06$ на 1000) ($p < 0,001$).

Заболеваемость COVID-19 среди ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-негативных увеличивалась с возрастом заболевших (табл. 1). Группой риска заболеваемости COVID-19 среди ЛЖВ и ВИЧ-негативных оказались лица старше 60 лет. Заболеваемость этой возрастной группы среди ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-негативных (32,7 и 61,9) была выше, чем детей 0–14 лет, лиц в возрасте 15–39 лет и 40–59 лет, в 1,1–2,1 раз соответственно ($p < 0,05$ во всех случаях). При этом заболеваемость COVID-19 среди возрастных групп ЛЖВ была в 1,8–2,3 раз ниже, чем среди аналогичных групп ВИЧ-негативного населения ($p < 0,001$ во всех случаях).

Таблица 1. Возрастная структура больных COVID-19 среди инфицированных и не инфицированных ВИЧ

Table 1. Age distribution in COVID-19 patients among HIV-infected and HIV-negative subjects

Возрастные группы Age groups	Заболеваемость на 1000 Incidence per 1000		t-критерий t test	p
	ВИЧ-инфицированные HIV-infected patients	ВИЧ-негативные HIV negative patients		
0–14 лет aged 0 to 14	15,2±3,5	35,3±0,1	5,7	< 0,01
15–39 лет 15 to 39 age group	24,3±0,6	43,9±0,1	32,2	< 0,01
40–59 лет 40 to 59 age group	26,5±2,1	51,7±0,1	11,9	< 0,01
60 лет и старше 60 years and over	32,7±2,9	61,9±0,2	10,1	< 0,01

Таблица 2. Социальная структура больных COVID-19 среди инфицированных и не инфицированных ВИЧ

Table 2. Social distribution of COVID-19 patients among HIV-infected and HIV-negative subjects

Социальные группы Social groups	Заболеваемость на 1000 Incidence per 1000		t-критерий t test	p
	ВИЧ-инфицированные HIV-infected patients	ВИЧ-негативные HIV negative patients		
Работники медицинских организаций Medical staff	64,8±23,7	81,6±0,7	0,7	0,5
Работники образовательных учреждений Employees of educational institutions	17,7±2,7	49,6±0,4	11,7	<0,01
Работники предприятий торговли и общественного питания Employees of eating and shopping facilities	31,2±2,9	33,6±0,3	0,8	0,4
Рабочие и служащие промышленных предприятий Employees of industrial enterprises	46,5±2,3	59,1±0,3	5,4	<0,01
Прочие работающие (работники сельского хозяйства, спорта, культуры, самозанятые) Other staff workers (workers in agriculture, sports, culture, self-employed)	18,9±1,1	50,5±0,2	28,3	<0,01
Неработающие, в том числе неработающие пенсионеры Non-working, including non-working pensioners	24,4±1,2	48,8±0,1	20,3	<0,01

При анализе заболеваемости COVID-19 по социальному составу было выявлено (табл. 2), что среди ЛЖВ группой риска заболеваемости оказались работники медицинских организаций. Их заболеваемость (64,8 на 1000) была выше, чем заболеваемость работников образовательных учреждений, работников предприятий торговли и общественного питания, прочих работающих (работники сельского хозяйства, спорта, культуры, самозанятые), а также неработающих, включая пенсионеров, в 2,1–3,7 раз ($p < 0,05$ во всех случаях). Лишь от заболеваемости рабочих и служащих промышленных предприятий заболеваемость медработников отли-

чалась несущественно. Среди ВИЧ-негативных группой риска заболеваемости COVID-19 так же оказались работники медицинских организаций, интенсивность эпидемического процесса среди которых (81,6 на 1000) была в 1,4–2,5 раз выше заболеваемости других контингентов ($p < 0,05$ во всех случаях во всех случаях). При этом в рамках анализируемых социальных групп населения в большинстве случаев заболеваемость COVID-19 ВИЧ-инфицированных по сравнению с ВИЧ-негативными была статистически значимо ниже.

Изучение тяжести клинического течения COVID-19 позволило установить (табл. 3), что

Таблица 3. Структура больных COVID-19 по тяжести клинического течения среди ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-негативных

Table 3. Clinical severity-based pattern of COVID-19 patients among HIV-infected and HIV-negative subjects

Степень тяжести Severity	Количество больных COVID-19 Number of COVID-19 patients			
	ВИЧ-инфицированные HIV-infected		ВИЧ-негативные HIV negative	
	абс. abs.	%	абс. abs.	%
Легкая Mild	2893	88,4 [87,3–89,5]	455 621	91,2 [91,1–91,3]
Среднетяжелая Moderate	268	8,2 [7,3–9,2]	35 017	7,0 [6,9–7,1]
Тяжелая Severe	111	3,4 [2,8–4,1]	8839	1,8 [1,7–1,9]
Всего Total	3272	100	499 507	100

Таблица 4. Тяжесть клинического течения COVID-19 у ВИЧ-инфицированных в зависимости от степени иммунных нарушений

Table 4. The severity of COVID-19 clinical course in HIV-infected subjects according to degree of immune disorders

Тяжесть COVID-19 COVID-19 severity	Иммунодефицит (количество CD4-клеток/мкл) Immunodeficiency (number of CD4 cells/ μ l)					
	> 500		200–500		< 200	
	количество больных number of patients	%	количество больных number of patients	%	количество больных number of patients	%
Легкая Mild	974	95,7 [92,4–96,8]	755	90,9 [88,8–92,8]	448	73,3 [69,8–76,7]
Среднетяжелая Moderate	44	4,3 [3,2–5,7]	63	7,6 [5,9–9,6]	107	17,5 [14,6–20,3]
Тяжелая Severe	0	0	12	1,5 [1,4–1,6]	56	9,2 [7,0–11,7]
Всего Total	1018	100	830	100	611	100

как у ВИЧ-инфицированных, так и у ВИЧ-негативных COVID-19 преимущественно протекала в легкой форме, доля которой составила 88,4% и 91,2% соответственно, что было достоверно меньше количества среднетяжелых (8,2% и 7,0%) и тяжелых (3,4% и 1,8%) форм соответственно ($p < 0,001$ во всех случаях). Иными словами, тяжесть клинического течения COVID-19 у ВИЧ-инфицированных не отличалась от тяжести COVID-19 у ВИЧ-негативных.

Оценка тяжести клинического течения COVID-19 у ВИЧ-инфицированных в зависимости от степени иммунных нарушений за 2020–2023 гг. показала (табл. 4), что в группе больных с количеством CD4-клеток/мкл < 200 частота возникновения легкой формы (73,3%) была достоверно ниже, чем в группе пациентов с количеством CD4-клеток от 200 до 500 (90,9%) и > 500 (95,7%) ($p < 0,01$ в обоих случаях).

Напротив доля среднетяжелых форм COVID-19 у ВИЧ-инфицированных в когорте больных с количеством CD4-клеток < 200 (17,5%) была выше, чем среди пациентов с количеством CD4-клеток 200–500 (7,6%) и > 500 (4,3%) ($p < 0,01$ в обоих случаях). Что касается тяжелых форм COVID-19, то они встречались в основном среди пациентов с количеством CD4 < 200 (9,2%) и реже в группе больных с количеством лимфоцитов от 200 до 500 (1,5%). Иначе говоря, тяжелые формы инфекции были зарегистрированы лишь среди ВИЧ-инфицированных с иммунодефицитом.

Анализ тяжести клинического течения COVID-19 у ВИЧ-инфицированных в зависимости от степени ВН выявил (табл. 5), что у больных с низкой ВН (< 250 копий РНК/мл) доля легких форм COVID-19 (92,5%) была выше, чем в когортах пациентов с вирусной на-

Таблица 5. Тяжесть клинического течения COVID-19 у ВИЧ-инфицированных в зависимости от степени вирусной нагрузки

Table 5. The severity of COVID-19 clinical course in HIV-infected subjects depending on viral load magnitude

Тяжесть COVID-19 COVID-19 severity	Вирусная нагрузка (количество копий РНК/мл) Viral load (number of RNA copies/ml)					
	< 250		250–10 000		> 10 000	
	количество больных number of patients	%	количество больных number of patients	%	количество больных number of patients	%
Легкая Mild	1341	92,5 (91,1–93,2)	226	85,9 (81,1–89,9)	542	83,1 ([80,0–85,9])
Среднетяжелая Moderate	96	6,6 (5,4–8,0)	29	11,0 (7,5–15,4)	67	10,3 (8,1–12,8)
Тяжелая Severe	12	0,9 (0,4–1,4)	8	3,1 (1,3–5,9)	43	6,6 (4,8–9,5)
Всего Total	1449	100	263	100	652	100

Таблица 6. Заболеваемость COVID-19 у ВИЧ-инфицированных в зависимости от уровня CD4-лимфоцитов

Table 6. COVID-19 incidence in HIV-infected people depending on CD4 lymphocyte level

Количество CD4-клеток/мкл CD4 T cells/ μ l	Количество ЛЖВ Number of PLHIV	Количество случаев COVID-19 Number of COVID-19 cases	
		абс. abs.	на 1000 ЛЖВ per 1000 PLHIV
< 200	14 981	611	40,8 \pm 1,6
200–500	32 242	830	25,7 \pm 0,9
> 500	31 817	1018	31,9 \pm 0,9

Таблица 7. Заболеваемость COVID-19 у ВИЧ-инфицированных в зависимости от степени вирусной нагрузки

Table 7. COVID-19 incidence in HIV-infected people depending on viral load level

Вирусная нагрузка, копий РНК/мл Viral load, RNA copies/ml	Количество ЛЖВ Number of PLHIV	Количество случаев COVID-19 Number of COVID-19 cases	
		абс. abs.	на 1000 ЛЖВ per 1000 PLHIV
< 250	49 528	1449	29,3 \pm 0,8
250–10 000	11 765	263	22,4 \pm 1,4
> 10 000	13 896	652	46,9 \pm 1,8

грузкой 250–10 000 и > 10 000 копий РНК/мл (85,9% и 83,1% соответственно) ($p < 0,01$ в обоих случаях). В то же время доля среднетяжелых и тяжелых формы COVID-19 была выше у ВИЧ-инфицированных с ВН 250–10 000 (11,0% и 3,1%) и > 10 000 (10,3% и 6,6% соответственно) по сравнению с ВН < 250 копий РНК/мл (6,6% и 0,9%) ($p < 0,01$ во всех случаях). Иными словами, с увеличением вирусной нагрузки тяжесть клинического течения COVID-19 возрастала.

Изучение частоты случаев COVID-19 в когортах ВИЧ-инфицированных с разным уровнем CD4-лимфоцитов и ВН за 2020–2023 гг. позволила выявить (табл. 6, 7), что среди лиц с уровнем CD4 < 200 клеток/мкл заболеваемость COVID-19 (40,8 \pm 1,6 на 1000 ЛЖВ) в 1,6 и 1,3 раз была выше, чем в группах с уровнем CD4 200–500 (25,7 \pm 0,9) и > 500 клеток/мкл (31,9 \pm 0,9) ($p < 0,01$). Среди ЛЖВ с ВН > 10 000 копий РНК/мл заболеваемость COVID-19 (46,9 \pm 1,8 на 1000 ЛЖВ) в 1,6 и 2,1 раз была выше, чем среди ВИЧ-инфицированных с ВН < 250 (29,3 \pm 0,8) и 250–10 000 (22,4 \pm 1,4) ($p < 0,01$ в обоих случаях). Следует отметить, что доля ВИЧ-инфицированных с уровнем CD4 < 200 клеток/мкл и ВН > 10 000 копий РНК/мл, то есть групп повышенной заболеваемости COVID-19, невелика и составляет в сумме обследованных лишь 22,8% и 18,5% соответственно.

Обсуждение

Представленные данные свидетельствуют, что заболеваемость COVID-19 среди разных возрастных и социальных групп ЛЖВ в 1,3–2,6 раз ниже,

чем среди аналогичных групп ВИЧ-негативного населения. Пониженный уровень заболеваемости COVID-19 регистрируется преимущественно в группе больных с относительно незначительными нарушениями иммунитета и невысокими показателями вирусной нагрузки. В группе ВИЧ-инфицированных с низким уровнем CD4-лимфоцитов и высокой вирусной нагрузкой заболеваемость COVID-19 увеличивается. При этом COVID-19 у ВИЧ-инфицированных, как и у ВИЧ-негативных, протекает преимущественно в легкой форме. Однако при выраженном иммунодефиците и высокой ВН у ВИЧ-инфицированных доля среднетяжелых и тяжелых форм COVID-19 возрастает.

Низкий уровень заболеваемости COVID-19 у ЛЖВ по сравнению с ВИЧ-негативным населением может быть связан с подавлением репликации коронавируса антиретровирусной терапией [19, 20, 26]. Так, в некоторых исследованиях сообщается о защитном эффекте некоторых антиретровирусных препаратов, а именно тенофовира дизопроксила фумарата/эмтрицитабина (TDF/FTC), против инфекции SARS-CoV-2 и исходов, связанных с COVID-19, у ЛЖВ [9]. Недавние сообщения свидетельствуют о значительном влиянии на SARS-CoV-2 противовирусного препарата ремдесивира, который структурно родственен тенофовиру, а также лопинавира [23, 27]. Защитный эффект указанных препаратов биологически возможен из-за способности нуклеотидных аналогов ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ) ингибировать РНК-зависимую РНК-полимеразу SARS-CoV-2 [4, 8, 10, 24]. АРТ ВИЧ-инфицированных,

по-видимому, на относительно ранних стадиях ВИЧ-инфекции является профилактикой не только заболеваемости COVID-19, но и тяжелого течения коронавирусной инфекции, что согласуется с мнением ряда авторов [6, 24].

Заключение

Эпидемический процесс COVID-19 среди ВИЧ-инфицированных менее интенсивный, чем среди ВИЧ-негативных людей, и, следовательно, ВИЧ-инфицированные не являют-

ся группой риска заболеваемости COVID-19. Лишь при очень выраженной иммуносупрессии и высокой вирусной нагрузке заболеваемость COVID-19 среди ВИЧ-инфицированных увеличивается и инфекция может протекать тяжелее, чем среди ВИЧ-негативных.

Конфликт интересов

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

Список литературы/References

1. Беляков Н.А., Боева Е.В., Симакина О.Е., Светличная Ю.С., Огурцова С.В., Серебрякова С.Л., Эсауленко Е.В., Загдын З.М., Язенко А.В., Лиознов Д.А., Стома И.О. Пандемия COVID-19 и ее влияние на течение других инфекций на Северо-Западе России // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2022. Т. 14, № 1. С. 7–24. [Belyakov N.A., Boeva E.V., Simakina O.E., Svetlichnaya Yu.S., Ogurtsova S.V., Serebryakova S.L., Esaulenko E.V., Zagdyn Z.M., Yazenok A.V., Lioznov D.A., Stoma I.O. COVID-19 pandemic and its impact on other infections in Northwest Russia. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2022, vol. 14, no. 1, pp. 7–24. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-7-24
2. Сергеев В.И., Сармометов Е.В., Рожкова М.В. Распространенность и тяжесть клинического течения новой коронавирусной инфекции среди ВИЧ-инфицированных в сравнении с общей популяцией // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2021. Т. 20, № 3. С. 30–36. [Sergeev V.I., Sarmometov E.V., Rozhkova M.V. Prevalence and severity of new coronavirus disease' clinical course among HIV-infected people in comparison with general population. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2021, vol. 20, no. 3, pp. 30–36. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-3-30
3. Ambrosioni J., Blanco J.L., Reyes-Urueña J. M., Davies M.A., Sued O., Marcos M.A., Martínez E., Bertagnolio S., Alcamí J., Miro J.M. Overview of SARS-CoV-2 infection in adults living with HIV. *Lancet HIV*, 2021, vol. 8, no. 5, pp. 294–305. doi: 10.1016/S2352-3018(21)00070-9
4. Augello M., Bono V., Rovito R., Tincati C., Marchetti G. Immunologic interplay between HIV/AIDS and COVID-19: adding fuel to the flames? *Curr. HIV/AIDS Rep.*, 2023, vol. 20, no. 2, pp. 51–75. doi: 10.1007/s11904-023-00647-z
5. Bachelard A., Sautereau A., Digumber M., Isernia V., Phung B., Lehur A.C., Gac S.L., Landman R., Yazdanpanah Y., Ghosn J. Risk factors associated with severe/critical COVID-19 in people living with HIV-1. *Int. J. Infect. Dis.*, 2022, vol. 122, pp. 152–154. doi: 10.1016/j.ijid.2022.05.055
6. Batu T.D., Obsu L.L., Deressa C.T. Co-infection dynamics of COVID-19 and HIV/AIDS. *Sci. Rep.*, 2023, vol. 13, no. 1: 18437. doi: 10.1038/s41598-023-45520-6
7. Cao B., Wang Y., Wen D., Liu W., Wang J., Fan G., Ruan L., Song B., Cai Y., Wei M., Li X., Xia J., Chen N., Xiang J., Yu T., Bai T., Xie X., Zhang L., Li C., Yuan Y., Chen H., Li H., Huang H., Tu S., Gong F., Liu Y., Wei Y., Dong C., Zhou F., Gu X., Xu J., Liu Z., Zhang Y., Li H., Shang L., Wang K., Li K., Zhou X., Dong X., Qu Z., Lu S., Hu X., Ruan S., Luo S., Wu J., Peng L., Cheng F., Pan L., Zou J., Jia C., Wang J., Liu X., Wang S., Wu X., Ge Q., He J., Zhan H., Qiu F., Guo L., Huang C., Jaki T., Hayden F.G., Horby P.W., Zhang D., Wang C. A Trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe COVID-19. *N. Engl. J. Med.*, 2020, vol. 382, no. 19, pp. 1787–1799 doi: 10.1056/NEJMoa2001282
8. Clososki G., Soldi R., Silva R.D. Guaratin T., Lopes J., Pereira P., Lopes J. Tenofovir disoproxil fumarate: new chemical developments and encouraging in vitro biological results for SARS-CoV- 2. *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 31, no. 8, pp. 1552–1556. doi: 21577/0103-5053.20200106
9. Del Amo J., Polo R., Moreno S., Díaz A., Martínez E., Arribas J.R., Jarrín I., Hernán M.A. Antiretrovirals and risk of COVID-19 diagnosis and hospitalization in HIV-positive persons. *Epidemiology*, 2020, vol. 31, no. 6, pp. 49–51. doi: 10.1097/EDE.0000000000001235
10. Elfiky A.A. Ribavirin, remdesivir, sofosbuvir, galidesivir, and tenofovir against SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp): a molecular docking study. *Life Sci.*, 2020, vol. 253: 117592. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117592
11. Farroni C., Aiello A., Picchianti-Diamanti A., Laganà B., Petruccioli E., Agrati C., Garbuglia A.R., Meschi S., Lapa D., Cuzzi G., Petrone L., Vanini V., Salmi A., Altera A.M.G., Repele F., Grassi G., Bettini A., Vita S., Mariano A., Damiani A., Infantino M., Grossi V., Manfredi M., Niccoli L., Puro V., Rosa R.D., Salemi S., Sesti G., Scolieri P., Bruzzese V., Benucci M., Cantini F., Nicastrì E. Goletti D. Booster dose of SARS-CoV-2 messenger RNA vaccines strengthens the specific immune response of patients with rheumatoid arthritis: a prospective multicenter longitudinal study. *Int. J. Infect. Dis.*, 2022, vol. 125, pp. 195–208. doi: 10.1016/j.ijid.10.035
12. Favara G., Barchitta M., Maugeri A. Andrea Maugeri, Faro G., Agodi A. HIV infection does not affect the risk of death of COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *J. Glob. Health.*, 2022, no. 12: 05036. doi: 10.7189/jogh.12.05036
13. Fleischer B., Olum R., Nakwagala F.N., Nassozi D.R., Pitua I., Paintsil E., Baluku J.B., Bongomin F.J. Higher intensive care unit consultations for COVID-19 patients living with HIV compared to those without HIV coinfection in Uganda. *J. Med. Virol.*, 2022, vol. 94, no. 9, pp. 4294–4300. doi: 10.1002/jmv.27887

14. Gesesew H.A., Koye D.N., Fetene D.M., Woldegiorgis M., Kinfu Y., Geleto A.B., Melaku Y.A., Mohammed H., Alene K.A., Awoke M.A., Birhanu M.M., Gebremedhin A.T., Gelaw Y.A., Shifti D.M., Muluneh M.D., Tegegne T.K., Abrha S., Aregay A.F., Ayalew M.B., Gebre A.K., Gebremariam K.T., Gebremedhin T., Gebremichael L., Leshargie C.T., Kibret G.D., Meazaw M.W., Mekonnen A.B., Tekle D.Y., Tesema A.G., Tesfay F.H., Tesfaye W., Wubishet B.L., Dachew B.A., Adane A.A. Risk factors for COVID-19 infection, disease severity and related deaths in Africa: a systematic review. *BMJ Open*, 2021, vol. 11, no. 2: e044618. doi: 10.1136/bmjopen-2020-044618
15. Guo W., Ming F., Dong Yu, Zhang Q., Liu L., Gao M. Driving force of COVID-19 among people living with HIV in Wuhan, China. *AIDS Care*, 2022, vol. 34, no. 11, pp. 1364–1371. doi: 10.21203/rs.3.rs-53351/v1
16. Härter G., Spinner C., Roider J., Bickel M., Krznicar I., Grunwald S., Schabaz F., Gillor D., Postel N., Mueller M.C., Müller M., Römer K., Schewe K., Hoffmann C. COVID-19 in people living with human immunodeficiency virus: a case series of 33 patients. *Infection*, 2020, vol. 48, no. 5, pp. 681–686. doi: 10.1007/s15010-020-01438-z
17. Ho H., Peluso M.J., Margus C., Lopes J.P. M., He C., Osorio G., Aberg J.A., Mullen M.P. Clinical outcomes and immunologic characteristics of Coronavirus Disease 2019 in people with human immunodeficiency virus. *J. Infect. Dis.*, 2021, vol. 223, no. 3, pp. 403–408. doi: 10.1093/infdis/jiaa380
18. Inciarte A., Gonzalez-Cordon A., Rojas J., Berta Torres, de Lazzari E., de la Mora L., Martinez-Rebollar M., Laguno M., Callau P., Gonzalez-Navarro A., Leal L., Garcia F., Mallolas J., Mosquera M., Marcos M.A., Ambrosioni J., Miro J.M., Martinez E., Blanco J.L. Clinical characteristics, risk factors, and incidence of symptomatic coronavirus disease 2019 in a large cohort of adults living with HIV: a single-center, prospective observational study. *AIDS*, 2020, vol. 34, no. 12, pp. 1775–1780. doi: 10.1097/QAD.0000000000002643
19. Li G., Park L.S., Lesley S.C., Lodi S., Logan R.W., Roger W., Cartwright E.J., Lydia A.B., Casas J.P., Dickerman B.A., Rentsch C.T., Justice A.C., Hernán M.A. Tenofovir disoproxil fumarate and coronavirus disease 2019 outcomes in men with HIV. *AIDS*, 2022, vol. 36, no. 12, pp. 1689–1696. doi: 10.1097/QAD.0000000000003314
20. Mateos-Muñoz B., Buti M., Vázquez I.F., Conde M.H., Bernal-Monterde V., Díaz-Fontenla F., Morillas R.M., García-Buey L., Badía E., Miquel M., Amador-Navarrete A., Rodríguez-Tajes S., Ramos-Merino L., Madejón A., García-Retortillo M., Arenas J.I., Cabezas J., Santiago J.M.G., Fernández-Rodríguez C., Cordero P., Diago M., Mancebo A., Pardo A., Rodríguez M., Hoyas E., Moreno J.J., Turnes J., Simón M.Á., Marcos-Fosch C., Calleja J.L., Bañares R., Lens S., Garcia-Samaniego J., Crespo J., Romero-Gomez M., Gea F., de Santiago E.R., Moreno S., Albillos A. Tenofovir disoproxil fumarate reduces the severity of COVID-19 in patients with chronic hepatitis B. *Dig. Dis. Sci.*, 2023, vol. 68, no. 6, pp. 2731–2737. doi: 10.1007/s10620-022-07817-w
21. Mirzaei H., McFarland W., Karamouzian M., Sharifi H. COVID-19 among people living with HIV: a systematic review. *AIDS Behav.*, 2020, pp. 1–8. doi: 10.1007/s10461-020-02983-2
22. Moreno-Torres V., Mendoza C., Martínez-Urbistondo M., Mills P., de la Fuente S., de Santiago A. D., Calderón-Parra J., Pintos-Pascua I., Corpas M., Soriano V. Predictors of in-hospital mortality in HIV-infected patients with COVID-19. *QJM*, 2023, vol. 116, no. 1, pp. 57–62. doi: 10.1093/qjmed/hcac215
23. Park S.Y., Lee J.S., Son J.S., Ko J.H., Peck K.R., Jung Y., Woo H.J., Joo Y.S., Eom J.S., Shi H. Post-exposure prophylaxis for Middle East respiratory syndrome in healthcare workers. *J. Hosp. Infect.*, 2019, vol. 101, pp. 42–46. doi: 10.1016/j.jhin.2018.09.005
24. Rombini M.F., Cecchini D., Menendez S.D., Calanni L., Cuini R., Obieta E., Greco M. M., Morales F., Morganti L., Migazzi C., Kozah Y.El., Parenti P., Cassetti I. Tenofovir-containing antiretroviral therapy and clinical outcomes of SARS-CoV-2 infection in people living with HIV. *Viruses*, 2023, vol. 15, no. 5: 1127. doi: 10.3390/v15051127
25. Ssentongo P., Heilbrunn E.S., Ssentongo A.E., Advani S., Chinchilli V.M., Nunez J.J., Du P. Prevalence of HIV in patients hospitalized for COVID-19 and associated mortality outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Presented at: IDWeek 2020; October 21-25, 2020. Poster 393*. doi: 10.1101/2020.07.03.20143628
26. Vizcarra P., Pérez-Eliás M., Quereda C., Moreno A., Vivancos M.J., Dronza F., Casado J.L. Description of COVID-19 in HIV-infected individuals: a single-centre, prospective cohort. *Lancet HIV*, 2020, vol. 7, no. 8, pp. 554–564. doi: 10.1016/S2352-3018(20)30164
27. Wang Z., Chen X., Lu Y., Chen F., Zhang W. Clinical characteristics and therapeutic procedure for four cases with 2019 novel coronavirus pneumonia receiving combined Chinese and Western medicine treatment. *Biosci. Trends*, 2020, vol. 14, pp. 64–68. doi: 10.5582/bst.2020.01030

Авторы:

Сергевнин В.И., д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии и гигиены ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера МЗ РФ, г. Пермь, Россия;
Рожкова М.В., зав. организационно-методическим отделом ГБУЗ ПК Пермский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными болезнями, г. Пермь, Россия.

Authors:

Sergevnin V.I., DSc (Medicine), Professor, Department of Epidemiology and Hygiene, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation;
Rozhkova M.V., Head of the Organizational and Methodological Department, Perm Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Perm, Russian Federation.

Поступила в редакцию 04.04.2024
 Принята к печати 13.08.2024

Received 04.04.2024
 Accepted 13.08.2024

ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ, СОЧЕТАННОЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В ДФО

Е.А. Базыкина, О.Е. Троценко, Л.А. Балахонцева, В.О. Котова

ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия

Резюме. Проблема сочетанных инфекций является одной из наиболее сложных как в лечении, так и эпидемиологическом надзоре. Существующая в Российской Федерации система не включает частный анализ коморбидных состояний ВИЧ и хронических вирусных гепатитов (ХВГ). Цель: выполнить ретроспективный эпидемиологический сравнительный анализ заболеваемости ВИЧ-инфекцией, ХВГ, ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, провести интегральную оценку эпидемических проявлений ВИЧ-инфекции, сочетанной с гемоконтактными вирусными гепатитами, в Дальневосточном регионе с 2007 по 2022 гг. Установлено, что показатели заболеваемости ВИЧ-инфекцией и микст-инфекцией ВИЧ+ХВГ имели однонаправленную тенденцию роста, и их значения в 2022 г. достигли для заболеваемости ВИЧ-инфекцией 30,7 случаев на 100 тыс. населения (в 2 раза выше, чем в 2007 г.), для заболеваемости ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, — 4,3 случая на 100 тыс. населения (в 6 раз выше, чем в 2007 г.). Заболеваемость ХВГ снижалась со среднемноголетним темпом убыли, равным 4,4%, и в 2022 г. составила 26,1 случай на 100 тыс. населения. Наибольшая заболеваемость микст-инфекцией ВИЧ+ХВГ регистрировалась в Приморском крае. В 2022 г. она превысила среднедальневосточную в 2,3 раза. Приморский край исторически характеризуется широким распространением ВИЧ-инфекции и гемоконтактных вирусных гепатитов, что отчасти связано со значительным распространением наркомании. Благополучная эпидемическая обстановка по микст-инфекции ВИЧ+ХВГ, согласно ранжированию заболеваемости, наблюдалась в Камчатском и Хабаровском краях, Республике Саха (Якутия) и Магаданской области. Поскольку ВИЧ-инфекция и ХВГ имеют длительное течение и лица с установленным ранее диагнозом могут продолжать оставаться источниками инфекции, изучение лишь заболеваемости для оценки эпидемической ситуации было признано недостаточным. В связи с этим дополнительно рассчитаны среднемноголетняя тенденция заболеваемости, пораженность населения микст-инфекцией ВИЧ+ХВГ, распространенность ХВГ среди лиц, живущих с ВИЧ, с последующим проведением интегрального анализа с расчетом коэффициента наглядности. Ранжирование коэффициента наглядности показало, что в Магаданской области и Республике Саха (Якутия) эпидемическая обстановка не являлась благоприятной, несмотря на невысокие показатели заболеваемости ВИЧ+ХВГ. Для обеих территорий выявлены выраженная тенденция роста заболеваемости и широкая распространенность ХВГ среди ВИЧ-инфицированного населения, а в Магаданской области установлена наиболее высокая пораженность населения сочетанной инфекцией. Помимо перечисленных выше субъектов, к неблагоприятным были отнесены Приморский край и Еврейская автономная область. Учитывая растущие показатели заболеваемости ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ, целесообразно выделение комор-

Адрес для переписки:

Базыкина Елена Анатольевна
680000, Россия, г. Хабаровск, ул. Шевченко, 2,
ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии
и микробиологии Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (4212) 46-18-55. E-mail: alyonaf@yandex.ru

Contacts:

Elena A. Bazykina
680000, Russian Federation, Khabarovsk, Shevchenko str., 2,
Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology
of the Rospotrebnadzor.
Phone: +7 (4212) 46-18-55. E-mail: alyonaf@yandex.ru

Для цитирования:

Базыкина Е.А., Троценко О.Е., Балахонцева Л.А., Котова В.О. Эпидемические проявления ВИЧ-инфекции, сочетанной с хроническими вирусными гепатитами в ДФО // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1139–1152. doi: 10.15789/2220-7619-ЕМО-17616

Citation:

Bazykina E.A., Trotsenko O.E., Balakhontseva L.A., Kotova V.O. Epidemic manifestations of HIV combined with chronic viral hepatitis in the Far Eastern Federal District // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1139–1152. doi: 10.15789/2220-7619-ЕМО-17616

бидных состояний (ВИЧ+ХВГ) в самостоятельное направление мониторинга в рамках существующей системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией, с использованием помимо анализа заболеваемости, интегрального метода оценки эпидемической ситуации.

Ключевые слова: гемоконтактные вирусные гепатиты, ВИЧ-инфекция, эпидемиология, сочетанные инфекции, ВИЧ-инфекция, сочетанная с хроническими вирусными гепатитами, заболеваемость, интегральный метод, ранжирование.

EPIDEMIC MANIFESTATIONS OF HIV COMBINED WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS IN THE FAR EASTERN FEDERAL DISTRICT

Bazykina E.A., Trotsenko O.E., Balakhontseva L.A., Kotova V.O.

Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), Khabarovsk, Russian Federation

Abstract. Coinfection is one of the most complex public health issues and is challenging both in choosing treatment strategy and in implementing epidemiological surveillance. The latter in the Russian Federation includes no specific monitoring after HIV and chronic viral hepatitis (CVH) coinfection. The objective of the study was to perform a retrospective epidemiological analysis of CVH, HIV-infection, HIV+CVH coinfection incidence, conduct integral assessment of HIV+CVH coinfection epidemic manifestations in the Far Eastern Federal District (FEFD) during the years 2007–2022. It was established that HIV-infection and HIV+CVH coinfection incidence showed a unilateral long-term growth trend reaching in 2022 up to 4.3 cases/100 000 population (by 6-fold higher than in 2007), which for HIV-infection incidence was as high as 30.7 cases/100 000 population (by 2-fold higher than in 2007). CVH incidence decrease with average long-term decline comprising 4.4% per year and in 2022 reaching 26.1 cases/100 000 population. Primorye Territory had highest incidence of HIV+CVH coinfection in 2022 that exceeded average level recorded among territories of the FEFD by 2.3-fold. Primorye Territory is a territory historically characterized by widespread of HIV-infection and CVH in human population partly due to broad drug use. Ranking of HIV+CVH coinfection incidence revealed territories with favorable epidemic situation as follows: Kamchatka Territory, Khabarovsk Territory, Republic of Sakha (Yakutia), Magadan Region. HIV infection and CVH are long-lasting conditions therefore individuals with verified diagnosis may remain a source of infection. Hence, the analysis of the disease incidence alone was found to be insufficient for assessing epidemic situation. Therefore, a comprehensive analysis was carried out to calculate integral index based on the sum of ranks of HIV+CVH coinfection incidence, prevalence and average long-term incidence, prevalence of CVH among HIV-positive subjects. Ranking of the integral index established unfavorable epidemic situation for HIV+CVH coinfection in the Magadan Region and Republic of Sakha (Yakutia). Both territories had an upward incidence trend, high prevalence of CVH among HIV-positive subjects. In addition, the Magadan Region had highest prevalence of HIV+CVH coinfection. Primorye Territory and Jewish Autonomous Region were also classified as unfavorable. Existing epidemiological surveillance after HIV-infection needs to be supplemented with separate monitoring over HIV+CVH coinfection. Estimating an integral index in addition to evaluation of incidence for assessment of the epidemic situation over coinfection will improve the analysis.

Key words: blood borne viral hepatitis, HIV-infection, epidemiology, coinfection, HIV and chronic viral hepatitis coinfection, incidence, integral method, ranking.

Введение

Современная система эпидемиологического надзора за вирусными гепатитами и ВИЧ-инфекцией не включает анализ сочетанного инфицирования ВИЧ-1 с вирусами гепатитов, в частности, с гемоконтактным путем передачи, которые значительно усугубляют течение ВИЧ-инфекции. Так, установлено, что при ВИЧ-инфекции, сочетанной с вирусным гепатитом С и/или гепатитом В, увеличивается риск развития тяжелого поражения печени и смерти, не ассоциированной со СПИДом, снижается эффективность антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции [33, 34, 35, 36].

Актуальность изучения эпидемического процесса (ЭП) сочетанных форм ВИЧ-инфекции несомненна, но основное внимание уде-

ляется эпидемиологическому анализу сочетанных форм ВИЧ-инфекции и туберкулеза [1, 6, 11, 30]. Публикации же об эпидемической ситуации сочетанного инфицирования ВИЧ-инфекцией и гемоконтактными вирусными гепатитами немногочисленны [26]. Значительно чаще встречаются литературные обзоры об основных характеристиках эпидемического процесса сочетанного инфицирования ВИЧ-инфекцией и хроническим гепатитом С (ХГС), значимости рискованного поведения в развитии ЭП, оценке трансмиссивности вирусов гепатитов с гемоконтактным путем передачи у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Например, подробно описана преимущественная передача гемоконтактным путем сочетанной инфекции ВИЧ с ХГС и ее широкое распространение среди потребителей инъекционных наркотиков

(ПИН), показано увеличение трансмиссивности ВГС среди пациентов с ВИЧ-инфекцией, продемонстрирована более частая регистрация данного варианта сочетанного инфицирования у женщин — половых партнеров мужчин, коинфицированных ВИЧ/ВГС, в сравнении с женщинами, сексуальными партнерами которых являются мужчины с ХГС-моноинфекцией. Отдельное внимание уделяется особому значению мужчин, имеющих секс с мужчинами, как резервуара данных инфекций в человеческой популяции. Множество работ посвящены и распространенности лабораторных маркеров гемоконтактных вирусных гепатитов среди ВИЧ-инфицированных лиц [19, 20, 22].

Достаточное внимание уделяется клиническому течению ВИЧ-инфекции в сочетании с хроническими вирусными гепатитами (ХВГ), оценке распространенности циркулирующих вариантов (генотипов) вирусов в регионах. Нередко представлен филогенетический анализ, позволяющий оценить эпидемиологические взаимосвязи между случаями заболеваний [2, 5, 7, 10, 15, 16].

В Дальневосточном федеральном округе (ДФО) анализ сочетанных форм ВИЧ-инфекции и гемоконтактных вирусных гепатитов проводился в основном в отдельных субъектах (в Республике Саха (Якутия), Приморском и Хабаровском краях), что безусловно представляет научный и практический интерес, но не позволяет экстраполировать результаты данных исследований на весь Дальневосточный регион [11, 23, 24, 25, 31].

Цель исследования: выполнить ретроспективный эпидемиологический сравнительный анализ заболеваемости ВИЧ-инфекцией, ХВГ, ВИЧ-инфекцией в сочетании с ХВГ, а также провести интегральную оценку эпидемических проявлений ВИЧ-инфекции, сочетанной с гемоконтактными вирусными гепатитами, на территориях Дальневосточного федерального округа.

Материалы и методы

Проведен анализ заболеваемости ХВГ, ВИЧ-инфекцией, а также ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, в соответствии с данными форм федерального статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (2007–2022 гг.), № 61 «Сведения о контингентах больных ВИЧ-инфекцией» (2007–2015 гг.), и данных за 16 лет наблюдения (2007–2022 гг.), полученных от территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Хабаровского, Приморского, Камчатского краев, Еврейской автономной области (ЕАОбл.),

Чукотского автономного округа (ЧАО), Республики Саха (Якутия), Магаданской, Сахалинской, Амурской областей. Эпидемиологический анализ не проводился для Республики Бурятия и Забайкальского края — субъектов, включенных в состав ДФО в 2018 г.

Сведения о заболеваемости, распространенности наркомании и числу мигрантов были взяты из открытых источников на сайтах территориальных управлений Федеральной службы государственной статистики. Коэффициент интенсивности миграции по прибытию или коэффициент прибытия мигрантов (K_m) рассчитывался по следующей формуле [9]:

$$K_m = \frac{П}{Ч_n} \times 100\,000,$$

где $П$ — число прибывших мигрантов в субъект за отчетный год, $Ч_n$ — среднегодовая численность населения субъекта в отчетном году.

Анализ значимости отличий между эпидемиологическими показателями проводился методом Стьюдента, оценка наличия корреляционной связи между ними — методом ранговой корреляции Спирмена. Наличие различий между показателями признавалось в случае получения критического уровня значимости (p) менее 0,05.

Территории считались благополучными или с низкой заболеваемостью при значении эпидемиологического показателя достоверно меньшем среднего по Дальневосточному региону. Напротив, ситуация в регионе расценивалась как напряженная или с высокой заболеваемостью при показателе, статистически значимо превышающем среднедальневосточный. Если статистически значимых отличий от среднего по ДФО уровня выявлено не было, заболеваемость в регионе расценивалась как средняя, а ситуация — как относительно стабильная.

Расчет интегрального показателя (коэффициент наглядности — K_n) проводился на основе ранжирования каждого из взятых для анализа показателей: заболеваемости, темпа прироста/убыли заболеваемости, пораженности ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, а также распространенности ХВГ среди ВИЧ-положительных лиц на изучаемых территориях. Далее осуществлялось суммирование полученных рангов («по сумме занятых мест») и рассчитывался интегральный показатель наглядности по следующей формуле [21, 28]:

$$K_n = \left(1 - \frac{S_x - S_p}{S_x - S_y}\right) \times 100,$$

где S_x — наименьшая (наилучшая) сумма рангов; S_p — сумма рангов, оцениваемого региона; S_y — наибольшая (наихудшая) сумма рангов.

Наибольшая сумма рангов определялась по уравнению: $S_y = x \times n_1$, где x — число членов динамического ряда, взятого для ранжирования; n_1 — число показателей, взятых для анализа. Наименьшая сумма рангов (S_x) равнялась числу показателей, взятых для ранжирования.

Оценка полученных тенденций заболеваемости проводилась следующим образом: при значениях темпа прироста от $-1,0\%$ до $1,0\%$ — тенденция заболеваемости характеризовалась как стабильная, от $\pm 3,0\%$ до $\pm 1,1\%$ — как слабовыраженная; от $\pm 3,1\%$ до $\pm 5,0\%$ — как умеренная; от $\pm 5,1\%$ до $\pm 7,0\%$ — как выраженная; при значениях тенденции ниже $-7,0\%$ и выше $7,0\%$ — как ярко выраженная [13].

Результаты

Сравнительный ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости ВИЧ-инфекцией, ХВГ и ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ. На протяжении 16-летнего периода наблюдения заболеваемость микст-инфекцией ВИЧ+ХВГ в ДФО увеличилась в 6 раз — с 0,7 (95% ДИ: 0,5–0,9) в 2007 г. до 4,3 (95% ДИ: 3,8–4,8) случаев на 100 тыс. населения в 2022 г., среднегодовой темп прироста ($T_{\text{ср}}$) равнялся 9,3%. Аналогичная тенденция прослеживалась и в отношении заболеваемости ВИЧ-инфекцией, которая возросла с 15,0 (95% ДИ: 14,0–16,0) до 30,7 (95% ДИ: 29,3–32,1) случаев на 100 тыс. населения ($T_{\text{ср}} = 13,4\%$). Среднегодовые уровни заболеваемости для микст-инфекции ВИЧ+ХВГ составили 3,5 (95% ДИ: 3,0–3,9) и для ВИЧ-инфекции — 27,1 (95% ДИ: 25,8–28,4) случаев на 100 тыс. населения.

Заболеваемость ХВГ, напротив, снижалась, ее значения в 2007 и 2022 гг. равнялись соответственно 75,9 (95% ДИ: 73,7–78,1) и 26,1 (95% ДИ: 24,8–27,4) случаев на 100 тыс. населения, снизившись в 2,9 раза со среднегодовым темпом убыли 4,4%. Среднегодовая заболеваемость ХВГ равнялась 55,2 (95% ДИ: 53,3–57,1) случаев на 100 тыс. населения (рис. 1).

Заболеваемость ВИЧ-инфекцией ($T_{\text{ср}} = 9,2\%$) и ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ ($T_{\text{ср}} = 13,4\%$), имели однонаправленную тенденцию роста (рис. 1), что подтверждается и корреляционно-регрессионным анализом, выявившим прямую высокую степень связи между анализируемыми показателями ($\rho = 0,85$; $p < 0,0001$). В то же время интенсивность эпидемического процесса ХВГ снижалась ($T_{\text{ср}} = -4,3\%$), причем была выявлена обратная зависимость между динамиками заболеваемости ХВГ и ВИЧ-инфекцией ($\rho = -0,8$; $p = 0,0002$), а также между заболеваемостью ХВГ и ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ ($\rho = -0,65$; $p = 0,006$).

Рост заболеваемости ВИЧ-инфекцией, микст-инфекцией ВИЧ с ХВГ и снижение заболеваемости ХВГ оказались характерными для всех субъектов ДФО, охваченных наблюдением, за исключением Амурской области, где среднегодовая тенденция заболеваемости ХВГ расценивалась как относительно стабильная (табл. 1).

Эпидемиологический анализ заболеваемости ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ на территориях ДФО. Несмотря на отмеченную общую тенденцию роста заболеваемости ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, в регионах Дальневосточного

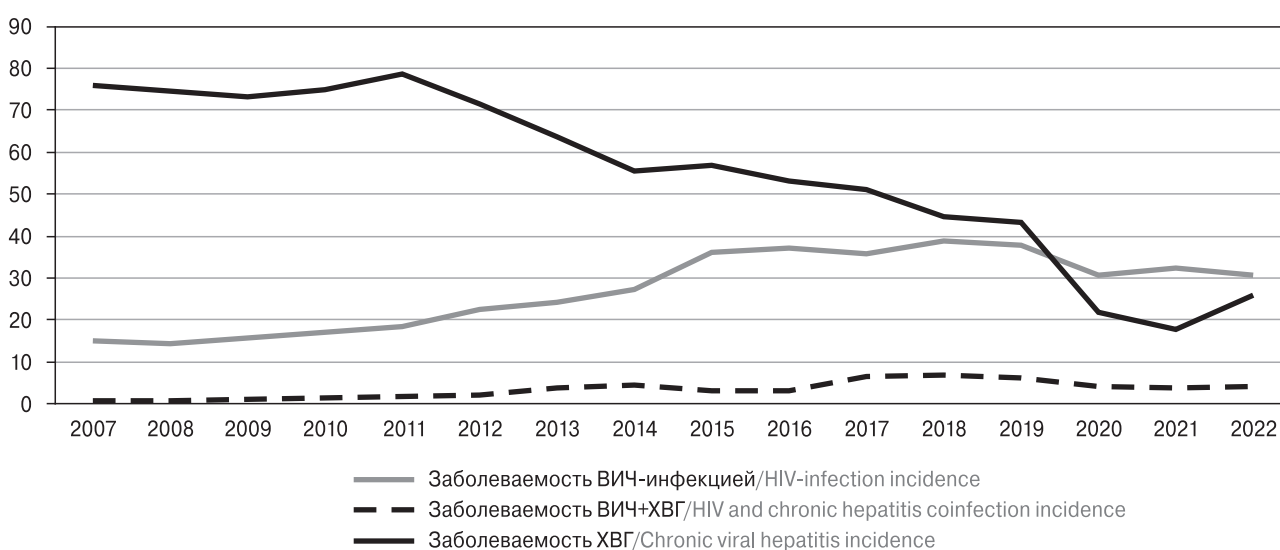


Рисунок 1. Заболеваемость ВИЧ-инфекцией, ВИЧ-инфекцией, ВИЧ-ХВГ микст-инфекцией и ХВГ населения 2007–2019 гг. на 100 тыс. населения

Figure 1. HIV, HIV + chronic viral hepatitis coinfection, chronic viral hepatitis infection incidence (per 100 thousand population) during the years 2007–2022

региона выявлены значительные отличия в показателях заболеваемости сочетанным инфицированием ВИЧ с ХВГ. Субъектом с наиболее высокой заболеваемостью микст-инфекцией ВИЧ+ХВГ, которая в 2022 г. превысила среднедальневосточное значение в 2,2 раза, оказался Приморский край (табл. 2). На протяжении изучаемого периода времени (2007–2022 гг.) заболеваемость ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, в Приморском крае имела ярко выраженную тенденцию роста ($T_{\text{ср}} = 21,02\%$).

Следует отметить, что Приморский край является субъектом с наибольшим числом впервые зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ, выявленных в ДФО на протяжении всех лет наблюдения. В 2022 г. практически 70% от всех случаев заболевания, зарегистрированных в ДФО, приходились на Приморский край. Остальные регионы вносили гораздо меньший вклад в развитие заболеваемости сочетанными формами ВИЧ-инфекции с ХВГ (рис. 2).

Приморский край также характеризуется значительным распространением наркомании, что может влиять на заболеваемость как ВИЧ-инфекцией в целом, так и сочетанными формами ВИЧ-инфекции и ХВГ. Данную гипотезу подкрепляют результаты корреляционного анализа, которые позволили выявить сильную зависимость между многолетней

(2007–2021 гг.) заболеваемостью наркоманией и ВИЧ-инфекцией ($\rho = 0,82$; $p = 0,0002$), а также между заболеваемостью наркоманией и сочетанным инфицированием ВИЧ с ХВГ ($\rho = 0,62$; $p = 0,01$).

В ЧАО и ЕАОбл. заболеваемость ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, превышала среднее окружной уровень, но статистически значимо не отличалась от среднего уровня по ДФО (табл. 2), что связано с малой численностью населения в указанных регионах (48 тыс. человек в ЧАО и 147,5 тыс. человек в ЕАОбл. в 2022 г.).

Тем не менее более расширенный анализ эпидемической ситуации позволил нам все же отнести данные субъекты к территориям риска распространения ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ.

Так, в ЕАОбл., которая наряду с Приморским краем являлась территорией с высоким уровнем потребления психотропных средств, на протяжении 2007–2019 гг. установлена прямая корреляционная связь между заболеваемостью населения микст-инфекцией (ВИЧ/ХВГ) и заболеваемостью наркоманией ($\rho = 0,62$; $p = 0,02$) и даже в большей мере — распространенностью наркомании ($\rho = 0,81$; $p = 0,001$). Следует отметить, что после начала пандемии в 2020 г. перестала прослеживаться корреляционная связь между заболеваемостью коинфицированием ВИЧ/ХВГ и наркоманией ($\rho = 0,29$; $p = 0,28$).

Таблица 1. Среднемноголетние тенденции заболеваемости ВИЧ-инфекцией, ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, и ХВГ в субъектах ДФО (2007–2022 гг.).

Table 1. Long-term trends for HIV, HIV + chronic viral hepatitis and chronic viral hepatitis incidence in the territories the Far Eastern Federal District (2007–2022)

Территория Constituent entities	Темп прироста/убыли заболеваемости ВИЧ, % Uprising/declining trends of HIV-infection, %	Темп прироста/убыли заболеваемости ВИЧ/ХВГ, % Uprising/declining trends of HIV and chronic viral hepatitis coinfection, %	Темп прироста/убыли заболеваемости ХВГ, % Uprising/declining trends of chronic viral hepatitis, %
Хабаровский край Khabarovsk Territory	8,3	3,3	-2,5
Приморский край Primorye Territory	7,4	21,0	-8,6
Республика (Саха) Якутия Republic (Sakha) Yakutia	8,2	23,4	-1,8
Амурская область Amur Region	14,6	13,3	-0,2
ЕАОбл. Jewish Autonomous Region	13,3	15,8	-1,7
Сахалинская область Sakhalin Region	14,1	4,5	-4,6
Магаданская область Magadan Region	9,4	16,2	-10,5
Камчатский край Kamchatka Territory	16,9	10,4	-3,7
ЧАО Chukotka Autonomous District	9,0	7,0	-20,4

Таблица 2. Заболеваемость ВИЧ-инфекцией, ВИЧ-ХВГ микст-инфекцией и ХВГ в ДФО (на 100 тыс. человек) и уровень распространенности ХВГ среди ВИЧ-позитивных лиц ДФО (%) в 2022 г.

Table 2. HIV-infection, HIV + chronic viral hepatitis and chronic viral hepatitis incidence (per 100 thousand population) and chronic viral infection prevalence among HIV-positive subjects (%) in 2022

Территория Constituent entities	ВИЧ инфекция; [ДИ 0,95] HIV-infection; [CI 0,95]	ВИЧ-ХВГ микст- инфекция; [ДИ 0,95] HIV and chronic viral hepatitis coinfection [CI 0,95]	ХВГ среди ВИЧ- инфицированных; [ДИ 0,95] Chronic viral hepatitis among HIV-positive people [CI 0,95]	ХВГ; [ДИ 0,95] Chronic viral hepatitis [CI 0,95]
ДФО Far Eastern Federal District	30,7 [29,3–32,1]	4,3 [3,8–4,8]	13,9 [13,9–27,4]	26,1 [24,8–27,4]
Хабаровский край Khabarovsk Territory	17,0* [14,8–19,3]	0,3* [0,1–0,7]	1,8* [1,78–1,82]	35,9** [32,7–39,2]
Приморский край Primorye Territory	46,3** [43,3–49,4]	9,5** [8,2–10,9]	20,4** [20,3–20,5]	24,4 [22,2–26,7]
Республика (Саха) Якутия Republic (Sakha) Yakutia	16,7* [14,2–19,4]	1,2* [0,6–2,0]	7,4* [7,35–7,45]	24,6 [21,6–27,8]
Амурская область Amur Region	25,0* [21,6–28,6]	3,8 [2,6–5,3]	15,1 [15,0–15,2]	33,1** [29,2–37,2]
ЕАОбл. Jewish Autonomous Region	25,6 [18,3–34,1]	5,6 [2,5–9,9]	21,9 [21,7–22,1]	37,1** [28,2–47,2]
Сахалинская область Sakhalin Region	32,1 [25,8–35,6]	3,5 [2,0–5,3]	10,9 [10,8–11,0]	26,2 [21,8–30,9]
Магаданская область Magadan Region	30,5 [22,0–40,3]	1,4* [0,1–4,0]	4,8* [4,7–4,9]	43,5** [33,3–55,1]
Камчатский край Kamchatka Territory	40,7** [33,9–48,1]	0* [0,0–0,0]	0* [0,0–0,0]	32,0 [26,0–38,6]
ЧАО Chukotka Autonomous District	56,0** [37,1–78,7]	8,0 [2,1–17,8]	14,3 [14,0–14,6]	4,0* [0,4–11,5]

Примечание. * — $p < 0,05$, показатель меньше по сравнению со средним по ДФО; ** — $p < 0,05$, показатель выше по сравнению со средним по ДФО. В квадратных скобках указан 95% доверительный интервал.

Note. * $p < 0.05$ — index is lower than average value in the Far Eastern Federal District; ** — $p < 0.05$ — index is higher than average in the Far Eastern Federal District.

В ЧАО динамика заболеваемости ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, была крайне изменчива (рис. 3), что связано с небольшой численностью населения региона. В связи с этим даже единичные случаи регистрации инфекционного заболевания обуславливают высокие уровни заболеваемости сочетанным инфицированием ВИЧ-инфекцией и ХВГ в ЧАО.

В отличие от Приморского края и ЕАОбл., значимость наркомании в распространении ВИЧ-инфекции в ЧАО была незначительной ($p = -0,26$; $p = 0,3$). Однако интересным оказался факт выявления в период с 2013 по 2019 гг. связи между ростом заболеваемости ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, и коэффициентом интенсивности миграции из стран СНГ по прибытию ($p = 0,85$; $p = 0,013$), в частности, из Украины ($p = 0,85$; $p = 0,013$). Причем данная тенденция стала менее выраженной после включения в анализ периода пандемии COVID-19 (2020–2022 гг.), когда интенсивность миграционных процессов значительно снизилась, в связи с чем корреляционная зависимость между изучаемыми показателями стала менее выраженной (заболеваемость микст-инфицированием ВИЧ-ХВГ и Км для мигрантов из Украины — $p = 0,62$; $p = 0,014$, заболеваемость микст-инфицированием ВИЧ-ХВГ и Км для мигрантов из стран СНГ — $p = 0,59$; $p = 0,02$).

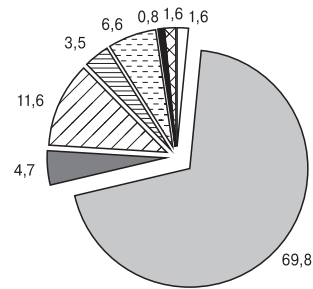
Интегральная оценка эпидемической ситуации ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ в субъектах ДФО. При ранжировании территорий по показателям заболеваемости выявлены четыре субъекта с наиболее благополучной эпидемической ситуацией по ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ (заболеваемость в субъектах статистически значимо ниже среднего значения по ДФО): Камчатский край, Хабаровский край, Республика Саха (Якутия) и Магаданская область (табл. 2).

Учитывая длительность течения ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов с гемоконтактным путем передачи, для проведения интегрального анализа, помимо заболеваемости, были также рассчитаны темпы прироста/убыли заболеваемости, пораженность сочетанным инфицированием ВИЧ/ХВГ и распространенность ХВГ среди ВИЧ-позитивных граждан (табл. 3).

После ранжирования территорий ДФО по пораженности микст-инфекцией ВИЧ-ХВГ оказалось, что в Магаданской области она была наиболее высокой среди всех территорий ДФО, несмотря на относительно невысокие значения заболеваемости в 2022 г. Следует отметить, что в субъекте в 2022 г. практически у 70% пациентов с ВИЧ-инфекцией был установлен диагноз хронического вирусного гепатита В и/или С. Оба обозначенных показателя свидетельствуют о сохранении в регионе потенциала для усугубления эпидемической обстановки. Интегральный анализ, согласно которому Магаданская область заняла последний, девятый, ранг, подтвердил неблагоприятное положение эпидемической ситуации по ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ, в регионе. Следовательно, Магаданская область не может считаться территорией низкого эпидемиологического риска (табл. 3).

Одной из возможных причин сложившейся ситуации в Магаданской области могло стать влияние приезжих трудовых мигрантов на эпидемический процесс микст-инфицирования ВИЧ+ХВГ, поскольку корреляционный анализ между пораженностью ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, и коэффициентом прибытия внутренних трудовых мигрантов в Магаданскую область подтвердил наличие прямой связи между этими явлениями ($\rho = 0,88$; $p = 0,002$).

Помимо Магаданской области, эпидемическое неблагоприятное положение прослеживалось и в Приморском крае, где выявлены высокие показатели заболеваемости и пораженности микст-формами ВИЧ+ХВГ инфекции, а также значительный темп прироста заболеваемости ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, несмотря на один из самых низких показателей распространенности ХВГ среди ВИЧ-позитивных лиц.



- Хабаровский край/Khabarovsk Territory
- Приморский край/Primorye Territory
- Республика (Саха) Якутия/Republic (Sakha) Yakutia
- Амурская область/Amur Region
- Еврейская авт.область/Jewish Autonomous Region
- Сахалинская область/Sakhalin Region
- Магаданская область/Magadan Region
- Камчатский край/Kamchatka Territory
- ЧАО/Chukotka Autonomous District

Рисунок 2. Структура вклада (%) субъектов ДФО в число лиц с впервые выявленным диагнозом ВИЧ-инфекции, сочетанным с ХВГ в 2022 г.
 Figure 2. 2022 Far Eastern Federal District territory-based impact (%) in HIV+chronic viral hepatitis first time diagnosed incidence

Еще одной территорией риска можно считать ЕАОбл., характеризующуюся довольно высоким темпом прироста заболеваемости ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, а также широкой распространенностью ХВГ среди лиц, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), при средних уровнях заболеваемости и пораженности ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ среди общего населения (табл. 3).



Рисунок 3. Многолетняя заболеваемость сочетанным инфицированием ВИЧ+ХВГ в ЧАО
 Figure 3. Long-term incidence of HIV + chronic viral hepatitis coinfection in the Chukotka Autonomous District

Таблица 3. Интегральная оценка эпидемиологических показателей ВИЧ-инфекции в сочетании с ХВГ в ДФО на основе данных 2022 г.

Table 3. 2022 integral evaluation of epidemic indexes for HIV + chronic viral hepatitis coinfection in the Far Eastern Federal District

Территория Constituent entities	Заболееваемость микст-инфекцией ВИЧ/ХВГ (на 100 тыс. нас.) HIV and chronic viral hepatitis coinfection incidence (per 100 000 pop).	Тпр, % R_{incr}	ХВГ среди ЛЖВ (на 1000 ЛЖВ) Chronic viral hepatitis prevalence among people living with HIV (per 100 people living with HIV)	Пораженность микст-инфекцией ВИЧ/ХВГ (на 100 тыс. нас.) Prevalence of HIV and chronic viral hepatitis (per 100 000 pop).	Кн I_{intgr}	Ранг Кн Rank of I_{intgr}	Ранг заб. Incidence rank
Хабаровский край Khabarovsk Territory	0,3*	3,3	533,00**	116,25*	31,3	2	2
Приморский край Primorye Territory	9,5**	21,0	209,29*	233,06**	75,0	8	9
Республика (Саха) Якутия Republic (Sakha) Yakutia	1,2*	23,4	411,51**	98,27*	50,0	6	3
Амурская область Amur Region	3,8	13,3	208,85	45,82*	31,3	2	6
ЕАОбл. Jewish Autonomous Region	5,6	15,8	494,67**	153,05	68,8	7	7
Сахалинская область Sakhalin Region	3,5	4,5	391,96	369,46**	46,9	5	5
Магаданская область Magadan Region	1,4*	16,2	682,31**	183,20**	78,1	9	4
Камчатский край Kamchatka Territory	0*	10,4	285,04	135,91*	31,3	2	1
ЧАО Chukotka Autonomous District	8,0	6,96	170,52*	117,91*	37,5	4	8
ДФО Far Eastern Federal District	4,3	13,4	281,87	153,37	–	–	–

Примечание. Тпр — среднелетний темп прироста заболеваемости микст-инфекцией ВИЧ/ХВГ; Кн — коэффициент наглядности (интегральный коэффициент); Ранг заб. — ранг заболеваемости микст-инфекцией ВИЧ-ХВГ; * — $p < 0,05$ — показатель меньше по сравнению со средним по ДФО; ** — $p < 0,05$ — показатель выше по сравнению со средним по ДФО.

Note. R_{incr} — long-term average tendency for HIV + chronic viral hepatitis incidence, I_{intgr} — integral index, Rank of I_{intgr} — integral index rank, * $p < 0.05$ — index is lower than average value in the Far Eastern Federal District; ** — $p < 0.05$ — index is higher than average value in the Far Eastern Federal District.

Территорией со скрытым потенциалом усугубления эпидемической обстановки оказалась Республика Саха (Якутия), где несмотря на относительно низкие значения заболеваемости и пораженности сочетанными инфицированием ВИЧ и ХВГ, регистрировались широкая распространенность ХВГ среди ВИЧ-позитивных лиц, превысившая 40%, и значительный темп прироста заболеваемости микст-инфицированием ВИЧ+ХВГ, а ранг интегрального показателя, выраженный коэффициентом наглядности, равнялся 6. Рост заболеваемости микст-формами ВИЧ+ХВГ в субъекте мог быть

связан с притоком мигрантов из стран СНГ ($p = 0,56$; $p = 0,025$), включая переселенцев из Таджикистана ($p = 0,71$; $p = 0,002$), а с 2013 г. — граждан Украины ($p = 0,61$; $p = 0,046$).

Наиболее благополучная эпидемическая обстановка в отношении ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ, согласно интегральному анализу, прослеживалась в Камчатском и Хабаровском краях, где уровни заболеваемости и пораженности были ниже среднедальневосточного значения. Амурскую область также можно причислить к территориям с низким эпидемиологическим риском. Данный субъект отличался

невысокими уровнями пораженности и заболеваемости ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ, распространенности ХВГ среди ЛЖВ, а также средним темпом прироста заболеваемости микст-инфекцией ВИЧ+ХВГ.

Обсуждение

Представленные в ходе исследования данные о разнонаправленных тенденциях заболеваемости ХВГ и ВИЧ-инфекции, а также ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ, свидетельствуют о значительном влиянии ВИЧ-инфекции, но не гемоконтактных вирусных гепатитов на эпидемический процесс сочетанного инфицирования ВИЧ+ХВГ. Полученные результаты согласуются с работой, где авторам на примере Республики Саха (Якутия) удалось показать наличие интеграционно-конкурентных отношений между ВИЧ-инфекцией и гемоконтактными вирусными гепатитами. Авторы показали несовпадение территорий риска ВИЧ-инфекции и гемоконтактных вирусных гепатитов. В частности, в центральной климатогеографической зоне республики, где преобладает животноводство и население преимущественно представлено якутами, показатели заболеваемости хроническими гепатитами В и С были выше, чем в других зонах — арктической, вилюйской и южной. Но заболеваемость ВИЧ-инфекцией в центральной зоне была одной из самых низких. В то время в южной зоне, где в Республике Саха (Якутия) развита горнодобывающая промышленность, напротив, заболеваемость ВИЧ-инфекцией оказалась наиболее высокой [31].

При сопоставлении полученных нами данных с результатами исследования, проведенного в Приволжском федеральном округе, где оценка распространенности микст-инфекции ВИЧ+ХВГ проведена на примере Пермского края, выявлены различия. Авторы исследования отмечали, что в период с 1996 по 2011 гг. динамика заболеваемости микст-инфекцией ВИЧ+ХВГ значительно варьировала: в 2001 г. был зарегистрирован ее пик (51,9 на 100 тыс. населения), после чего на протяжении последующих трех лет (до 2004 г.) регистрировался ее спад с последующим ростом, начиная с 2005 г., а наибольшие значения были отмечены в 2011 г. (67,0 на 100 тыс. населения). Многолетняя заболеваемость ВИЧ-инфекцией, сочетанной с хроническим вирусным гепатитом В, была представлена монотонной кривой, а средний уровень заболеваемости составил всего 0,2 случая на 100 тыс. населения [26]. За смежный промежуток времени в ДФО также регистрировался планомерный рост заболеваемости ВИЧ-инфекцией, соче-

танной с ХВГ, но с меньшими, чем в Пермском крае, показателями: с 0,72 случаев на 100 тыс. населения в 2007 г. до 1,93 случаев на 100 тыс. населения в 2011 г.

Как известно, одним из ведущих факторов риска инфицирования как ВИЧ-инфекцией, так и гемоконтактными вирусными гепатитами является наркомания, что нашло подтверждение в нашем исследовании. В Приморском крае — субъекте, вносящем основной вклад в развитие эпидемии ВИЧ-инфекции, в том числе сочетанной с ХВГ в ДФО, — заболеваемость наркоманией была в разы выше таковой в Пермском крае — 43,50 и 11,5 случаев на 100 тыс. населения, чем отчасти можно объяснить более широкое распространение ХВГ среди ВИЧ-инфицированных в ДФО в сравнении с Пермским краем [27].

Таким образом, данные, полученные в ходе текущего исследования, свидетельствуют о значительно меньшем распространении ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ, среди населения Дальневосточного региона и его субъектов в сравнении с территориями Приволжского федерального округа (Пермский край).

Следует отметить, что использование одной лишь заболеваемости с целью оценки эпидемического процесса сочетанных хронических инфекций, в частности, ВИЧ-инфекции и гемоконтактных вирусных гепатитов, является недостаточным. В связи с чем важно проводить комплексный анализ нескольких эпидемиологических показателей для получения более полной картины [32]. Учитывая хроническое течение ВИЧ-инфекции и гемоконтактных вирусных гепатитов, помимо анализа заболеваемости и ее многолетней тенденции, следует учитывать пораженность населения сочетанным инфицированием и распространенность ХВГ среди ВИЧ-инфицированных лиц, так как пациенты с ранее установленным диагнозом могут продолжать представлять эпидемическую опасность, являясь источниками инфекции, особенно в случае отсутствия приверженности лечению или развития у возбудителей резистентности к препаратам [8, 18].

Так, при ранжировании территорий, согласно заболеваемости ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ВИЧ, благополучными были признаны Камчатский край, Хабаровский край, Республика Саха (Якутия) и Магаданская область.

Однако после применения интегрального коэффициента наглядности оказалось, что в Магаданской области, несмотря на низкую заболеваемость, эпидемическая ситуация была напряженной вследствие высоких уровней пораженности населения сочетанными инфицированием ВИЧ+ХВГ и широкой распространенности ХВГ среди ВИЧ-позитивных граждан

региона, причем при ранжировании коэффициента наглядности этот субъект занял последнее ранговое место. По результатам интегральной оценки, неблагоприятная эпидемическая обстановка была выявлена и в Республике Саха (Якутия), где зарегистрирован высокий темп среднесноголетнего прироста заболеваемости и значительное распространение ХВГ среди ЛЖВ. Неблагополучными субъектами также оказались Приморский край и ЕАОбл. Причем если в Приморском крае заболеваемость микст-инфекцией ВИЧ+ХВГ была высокая, то в ЕАОбл. этот показатель имел невысокие значения и статистически значимо не отличался от среднего уровня в Дальневосточном регионе.

Актуальным является и изучение факторов, оказывающих воздействие на эпидемический процесс сочетанных инфекционных болезней. Так, важное влияние на эпидемиологические показатели ВИЧ-инфекции, в том числе сочетанной с ХВГ, исторически оказывала наркомания. Однако на современном этапе влияние парентерального пути передачи ВИЧ и вирусов гепатитов с гемоконтактной передачей (в частности, при потреблении опиоидных наркотиков) снижается, но среди субъектов ДФО остается наиболее актуальным для Приморского края [29]. Это нашло подтверждение и в ходе нашего исследования: была выявлена значимая зависимость между заболеваемостью наркоманией, ВИЧ-инфекцией, в том числе сочетанной с ХВГ, в данном субъекте. Еще одной территорией со значительным влиянием наркомании на эпидемический процесс сочетанного инфицирования ВИЧ и ХВГ оказалась ЕАОбл.

Помимо наркомании, изменения в эпидемической ситуации ВИЧ-инфекции могут быть связаны с миграционными процессами — внешней и внутренней миграцией. Примером может стать Республика Саха (Якутия), которая посредством интегрального анализа была отнесена к территориям с существующим риском ухудшения эпидемической ситуации по ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ. В ходе исследования в данном субъекте выявлена корреляционная зависимость между заболеваемостью сочетанным инфицированием ВИЧ+ХВГ и показателем притока мигрантов из стран СНГ, в частности Таджикистана и Украины. В настоящее время риск обострения эпидемической ситуации по микст-инфицированию ВИЧ+ХВГ может быть обусловлена привлекательностью региона для трудовой деятельности в связи с активной добычей полезных ископаемых и драгоценных металлов [4, 14].

Еще одним субъектом, вызывающим интерес у трудовых мигрантов за счет разработки месторождений полезных ископаемых, явля-

ется Магаданская область [3]. Согласно официальным данным Госстата «О межрегиональной трудовой миграции», Магаданская область в 2019 г. входила в группу субъектов с высокой долей граждан, прибывающих из других регионов (8,5%), которые могут быть потенциальным источником инфекции [17]. Так, нами в Магаданской области была выявлена зависимость между активностью притока внутренних трудовых мигрантов в регион и пораженностью населения ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХВГ.

Несмотря на то что численность привлеченных в ЧАО иностранных работников регламентируется и в целом характерен миграционный отток, в данном субъекте также отмечено влияние притока мигрантов из стран СНГ на заболеваемость микст-инфекцией ВИЧ+ХВГ [12].

Таким образом, использование комплексной оценки эпидемиологических показателей ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ, позволяет проводить анализ различных аспектов эпидемического процесса коморбидных инфекций, и, исходя из результатов, принимать своевременные организационные и управленческие решения при реализации противоэпидемических мероприятий.

Выводы

1. Показатели заболеваемости ВИЧ-инфекцией, в том числе сочетанными формами ВИЧ и ХВГ, на протяжении 2007–2022 гг. имели тенденцию к росту, в то время как в целом среди населения ДФО заболеваемость ХВГ снижалась. Наибольшие уровни ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ, были зарегистрированы в Приморском крае, что было обусловлено значительным распространением наркомании.

2. Использование интегрального показателя для оценки эпидемической ситуации позволило определить территории с напряженной обстановкой в отношении ВИЧ-инфекции, сочетанной с ХВГ, которые после ранжирования заболеваемости характеризовались как благополучные. Ими оказались Магаданская область и Республика Саха (Якутия). В общей сложности к неблагоприятным территориям, помимо выше перечисленных, были также отнесены Приморский край и ЕАОбл.

3. Установлено, что в Республике Саха (Якутия) эпидемическое неблагополучие могло быть связано с увеличением притока иностранных мигрантов, а в Магаданской области — внутренних трудовых мигрантов, о чем свидетельствует наличие прямой корреляционной связи между изучаемыми показателями. В Приморском крае и ЕАОбл. прослеживается связь с широким распространением наркомании.

4. Учитывая значительный рост заболеваемости сочетанными формами ВИЧ+ХВГ среди населения Дальневосточного региона, требуется проведение углубленного эпидемиологического анализа с использованием показателя заболеваемости и интегрального коэффициента наглядности, включающего заболеваемость, темп прироста заболеваемости, пораженность населения микст-инфицированием ВИЧ+ХВГ и распространенность ХВГ среди ВИЧ-позитивных лиц. В рамках уже существующей системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией целесообразно выделение коморбидных состояний (ВИЧ+ХВГ) в самостоятельное направление мониторинга.

Благодарности

За предоставленные статистические данные выражаем благодарность руководителю Управления Роспотребнадзора по Хабаровскому краю Т.А. Зайцевой, руководителю Управления Роспотребнадзора по Амурской области О.П. Кургановой, руководителю Управления Роспотребнадзора по Республике Саха (Якутия) М.Е. Игнатъевой, руководителю Управления Роспотребнадзора по Приморскому краю Т.Н. Детковской, начальнику отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Приморскому краю Т.А. Ельчаниновой, руководителю Управления Роспотребнадзора по Еврейской автономной области П.В. Копылову, руководителю Управления Роспотребнадзора по Камчатскому краю

Я.Н. Господарик, руководителю Управления Роспотребнадзора по Сахалинской области О.А. Фунтусовой, руководителю Управления Роспотребнадзора по Магаданской области С.А. Корсунской, руководителю Управления Роспотребнадзора по Чукотскому автономному округу А.В. Семинихину, главному врачу КГБУЗ «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» МЗ ХК А.В. Кузнецовой, главному врачу ОГБУЗ «Центр профилактики и борьбы со СПИД» М.Н. Павловой, главному врачу Магаданский областной центр профилактики и борьбы со СПИД» Е.А. Дамерт, главному врачу «ГБУЗ «Камчатский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» И.В. Давудовой, главному врачу ГБУЗ «Сахалинский областной центр по профилактике и борьбе со СПИДом» Е.А. Ломакиной, заместителю главного врача по профилактике ГБУЗ «Сахалинский областной центр по профилактике и борьбе со СПИДом» М.В. Мокиенко, главному врачу ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» С.Н. Бениовой, заведующей центром по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» И.С. Гореловой, заведующей отделом эпидемиологического надзора центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» Е.И. Мирошниченко, главному врачу ГБУ РС(Я) «Якутский Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД» А.Г. Золотаревой.

Список литературы/References

1. Афанасьев Е.И., Русских О.Е. Современные тенденции в эпидемиологии туберкулеза и ВИЧ-инфекции в мире и в Российской Федерации // Русский медицинский журнал. 2021. Т. 29, № 3. С. 24–26. [Afanasyev E.I., Russkikh O.E. Modern trends in the epidemiology of tuberculosis and HIV infection worldwide and in the Russian Federation. *Russkii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal*, 2021, vol. 29, no. 3, pp. 24–26. (In Russ.)]
2. Бурдова Е.Ю., Вознесенский С.Л., Самотолкина Е.С., Ермак Т.Н., Климова П.В., Корнева И.А. Проблема коморбидности у больных с ВИЧ-инфекцией и циррозом печени в отделении интенсивной терапии // Медицинский вестник Юга России. 2024. Т. 15, № 3. С. 83–89. [Burdova E.Yu., Voznesenskiy S.L., Samotolkina E.S., Ermak T.N., Klimkova P.V., Korneva I.A. The problem of comorbidity in patients with HIV infection and hepatic cirrhosis in the intensive care unit. *Medicinskij vestnik Yuga Rossii = Medical Herald of the South of Russia*, 2024, vol. 15, no. 3, pp. 83–89. (In Russ.)] doi: 10.21886/2219-8075-2024-15-3-82-89
3. Гальцева Н.В., Фавстрицкая О.С., Шарыпова О.А. Социально-экономическое развитие Магаданской области: ретроспективный анализ (1990–2018 гг.) // Вестник Северо-Восточного научного центра ДВО РАН. 2020. № 1. С. 94–106. [Galtseva N.V., Favstritskaya O.S., Sharypova O.A. Socio-economic development of Magadan oblast: retrospective analysis (1990–2018). *Vestnik Severo-Vostochnogo nauchnogo isentra DVO RAN = Bulletin of the North-East Scientific Center, Russia Academy of Sciences Far East Branch*, 2020, no. 1, pp. 94–106. (In Russ.)] doi: 10.34078/1814-0998-2020-1-94-106
4. Горохова М.А. Международная миграция на территории Республики Саха (Якутия): состояние и перспективы // Аллея науки. 2019. Т. 12, № 2. С. 12–16. [Gorokhova M.A. International migration in the territory of the Republic of Sakha (Yakutia): status and prospects. *Alleya nauki = Alley Science*, 2019, vol. 12, no. 2, pp. 12–16. (In Russ.)]
5. Громова Е.А., Сусин Д.С., Трофимова Т.Н., Беляков Н.А. Структурные и метаболические изменения в центральной нервной системе у женщин с сочетанной инфекцией ВИЧ/ВГС // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2022. Т. 14, № 1. С. 37–45. [Rassokhin V.V., Boeva E.V., Gromova E.A., Susin D.S., Trofimova T.N., Belyakov N.A. Structural and metabolic changes in the central nervous system in women with HIV/HCV co-infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2022, vol. 14, no. 1, pp. 37–45. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-37-45

6. Елисеева Е.В., Еремеева В.А., Скляр Л.Ф., Шишкова Л.И., Бениова С.Н., Ли О.Н., Кобаев В.С., Рязанова Е.В. Сочетанная инфекция ВИЧ/туберкулез в Приморском крае // Тихоокеанский медицинский журнал. 2021. Т. 83, № 1. С. 51–55. [Eliseeva E.V., Eremeeva V.A., Sklyar L.F., Shishkova L.I., Beniova S.N., Li O.N., Kobayev V.S., Ryazanova E.V. Coinfection of HIV/tuberculosis in Primorye Territory. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2021 vol. 83, no. 1, pp. 51–55. (In Russ.)] doi: 10.34215/1609-1175-2021-1-51-55
7. Жердева А.И., Кузнецова А.В., Горovenko Н.А., Дуботолкина Е.В., Ларина Н.Н., Лойфман Е.А., Старухина И.Н., Татарченко И.А., Аксютин В.А., Дятлов В.П. Клинико-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции в Хабаровском крае: хронические вирусные гепатиты, туберкулез и другие оппортунистические заболевания // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2008. № 12. С. 87–94. [Zherdeva A.I., Kuznetsova A.V., Gorovenko N.A., Dubotolkina E.V., Larina N.N., Loifman E.A., Starukhina I.N., Tatarchenko I.A., Aksutina V.A., Dyatlov V.P. Clinical and epidemiological characteristics of HIV infection in the Khabarovsk region: chronic viral hepatitis, tuberculosis, and other opportunistic infections. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii = Far Eastern Journal of Infectious Pathology*, 2008. no. 12, pp. 87–94. (In Russ.)]
8. Жуманов А.А., Сергалиева А.Ш., Абдраимов С.Б., Махамбетов К.О. Приверженность людей, живущих с ВИЧ к антиретровирусной терапии // Астана медициналык журналы. 2022. S1. С. 218–229. [Zhumanov A.A., Sergaliev A.Sh., Abdraimov S.B., Makhambetov K.O. Adherence of people living with HIV to antiretroviral therapy. *Astana Medical Journal*, 2022, S1, pp. 218–229. (In Russ.)] doi: 10.54500/2790-1203.S1.2022.218-229
9. Калачикова О.Н., Александр П.Б. К вопросу об измерении миграционных процессов // Проблемы развития территории. 2018. Т. 96, № 4. С. 7–17. [Kalachikova O.N., Budilov A.P. The issue of measuring migration processes. *Problemy razvitiya territorii = Problems of Territory's Development*, 2018, vol. 96, no. 4, pp. 7–17. (In Russ.)] doi: 10.15838/ptd.2018.4.96.1
10. Карташов М.Ю., Свирин К.А., Кривошеина Е.И., Чуб Е.В., Терновой В.А., Кочнева Г.В. Распространенность и молекулярно-генетическая характеристика вирусов парентеральных гепатитов В, С и D у ВИЧ-позитивных лиц в Новосибирской области // Вопросы вирусологии. 2022. Т. 67, № 5. С. 423–438. [Kartashov M.Y., Svirin K.A., Krivosheina E.I., Chub E.V., Ternovoi V.A., Kochneva G.V. Prevalence and molecular genetic characteristics of parenteral hepatitis B, C and D viruses in HIV positive persons in the Novosibirsk region. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2022, vol. 67, no. 5, pp. 423–438. (In Russ.)] doi: 10.36233/0507-4088-133
11. Ковалев В.М., Журавкова О.Л. Особенности диагностики и лечения ко-инфекции ВИЧ/ТБ и ТБ/вирусные гепатиты в Магаданской области // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2008. № 13. С. 75–77. [Kovalev V.M.I., Zhuravkova O.L. Peculiarities of diagnostics and treatment of co-infections HIV/TB, TB/viral hepatitis in magadan region. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii = Far Eastern Journal of Infectious Pathology*, 2008, no. 13, pp. 75–77. (In Russ.)]
12. Коломиец О.П. Особенности современных миграционных процессов на крайнем северо-востоке России (Чукотский вариант) // Власть и управление на Востоке России. 2020. Т. 93, № 4. С. 207–214. [Kolomiets O.P. Features of modern migration processes in the Northern Far-East of Russia (Chukchi version). *Vlast' i upravlenie na Vostoke Rossii = Power and Administration in the East of Russia*, 2020, vol. 93, no. 4, pp. 207–214. (In Russ.)] doi 10.22394/1818-4049-2020-93-4-207-214
13. Колпаков С.Л. Методология изучения эпидемического процесса статистическими и аналитическими методами. Владивосток: Медицина ДВ, 2023. 308 с. [Kolpakov S.L. Methodology of epidemic process evaluation using statistical and analytical methods. *Vladivostok: Medicine DV*, 2023. 308 p. (In Russ.)]
14. Константинов Н.Н. Прогноз и перспективы развития добычи полезных ископаемых западной экономической зоны Республики Саха (Якутия) // Экономика: вчера, сегодня, завтра. 2021. Т. 11, № 11А. С. 369–377. [Konstantinov N.N. Forecast and prospects for the development of mineral mining in the western economic zone of the Republic of Sakha (Yakutia). *Ekonomika: vchera, segodnya, zavtra = Economics: Yesterday, Today and Tomorrow*, 2021, vol. 11, no. 11A, pp. 369–377. (In Russ.)] doi: 10.34670/AR.2021.37.86.043
15. Кравченко А.В., Аксенова В.Я., Гуркина Е.А., Жуков В.В., Иванова Э.С., Козырев О.А., Покровский В.В. Ингибитор интегразы ВИЧ ралтегравир в составе схем антиретровирусной терапии у больных ВИЧ-инфекцией и гепатитом // Инфекционные болезни. 2015. Т. 13, № 3. С. 5–11. [Kravchenko A.V., Aksenova V.Ya., Gurkina L.A., Zhukov V.V., Ivanova E.S., Kozurev O.A., Nagimova F.I., Strebkova E.A., Chernova O.E., Pokrovskiy V.V. The HIV integrase inhibitor raltegravir as part of antiretroviral therapy schemes in patients with HIV infection and hepatitis. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2015, vol. 13, no. 3, pp. 5–11. (In Russ.)] doi 10.20953/1729-9225-2015-3-5-11.
16. Манапова Э.Р., Фазылов В.Х.Р., Ткачева С.В. Клинико-патогенетическое значение активности аланинаминотрансферазы при сочетанной инфекции ВИЧ/ВГС и ВИЧ-инфекции // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2019. Т. 8, № 3 (30). С. 14–20. [Manapova E.R., Fazylov V.Kh., Tkacheva S.V. Clinical and pathogenetic significance of alanine aminotransferase activity in combined HIV/HCV and HIV monoinfection. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2019, vol. 8, no. 3 (30), pp. 14–20. (In Russ.)] doi: 10.24411/2305-3496-2019-13002
17. О межрегиональной трудовой миграции, 2020 г. [On interregional labor migration, 2020. (In Russ.)] URL: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/GhpJyhEX/mtm_2019.pdf
18. Останкова Ю.В., Шемелев А.Н., Зуева Е.Б., Чурина М.А., Валутите Д.Э., Семенов А.В. Молекулярная эпидемиология и фармакорезистентность ВИЧ у пациентов с вирусологической неэффективностью антиретровирусной терапии в Архангельской области // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2019. Т. 11, № 4. С. 79–90. [Ostankova Yu.V., Schemelev A.N., Zueva E.V., Churina M.A., Valutite D.E., Semenov A.V. HIV molecular epidemiology and pharmaco-resistance in patients with antiretroviral therapy failure in Arkhangelsk district. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2019, vol. 11, no. 4, pp. 79–90. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-4-79-90
19. Рассохин В.В., Боева Е.В. Вопросы эпидемиологии и патогенеза сочетанной инфекции ВГС и ВИЧ // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2020. Т. 12, № 1. С. 32–46. [Rassokhin V.V., Bueva E.V. Issues of epidemiology and pathogenesis of HIV-HCV co-infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2020, vol. 12, no. 1, pp. 32–46. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2020-12-1-32-46

20. Рахмонов Д.Э. Некоторые клинико-эпидемиологические аспекты коинфекции ВИЧ/гепатит С // *Здравоохранение Таджикистана*. 2023. № 1. С. 66–72. [Rakhmonov J.E. Some clinical and epidemiological aspects of HIV/ hepatitis C coinfection. *Zdravookhranenie Tadzhikistana = Healthcare of Tajikistan*, 2023, no. 1, pp. 66–72. (In Russ.)] doi: 10.52888/0514-2515-2023-356-1-66-72
21. Рассохин В.В., Боева Е.В., Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. Эпидемиологический анализ: методы статистической обработки материала. Новосибирск: Наука-Центр, 2011. 155 с. [Savilov E.D., Astafev V.A., Zhdanova S.N., Zarudnev E.A. Epidemiological analysis: methods of statistical processing of material. *Novosibirsk: Science Center*, 2011. 155 p. (In Russ.)]
22. Саттарова Г.Ж., Нурматов З.Ш. Сравнительная оценка распространенности парентеральных вирусных гепатитов В и С среди лиц живущих с ВИЧ и условно здоровых лиц в Кыргызской Республике // *Здравоохранение Кыргызстана*. 2021. № 4. С. 98–104. [Sattarova G.J., Nurmatov Z.Sh. Comparative assessment of prevalence of parenteral viral hepatitis B and C among people with HIV and conditionally healthy in the Kyrgyz Republic. *Zdravookhranenie Kyrgyzstana = Healthcare of Kyrgyzstan* 2021, no. 4, pp. 98–104. (In Russ.)] doi: 10.51350/zdravkg20211241241398
23. Семенов С.И. Терехова М.В., Балахонцева Л.А., Кузин С.Н. Распространенность и генетическая характеристика вируса гепатита С в РС (Я) // *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2009. № 15. С. 51–55. [Semenov S.I., Terekhova M.V., Balakhontseva L.A., Kuzin S.N. Incidence and genetic characteristics of viral hepatitis C in the Sakha republic (Yakutia). *Dal'nevostochnyj zhurnal infektsionnoy patologii = Far Eastern Journal of Infectious Pathology*, 2009, no. 15, pp. 51–55. (In Russ.)]
24. Скляр Л.Ф., Ли Ю.А., Горелова И.С. Противовирусная терапия парентеральных гепатитов у ВИЧ-инфицированных пациентов в Приморском крае // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2009. Т. 38, № 4. С. 80–82. [Sklyar L.F., Li Yu.A., Gorelova I.S. Antiviral therapy of parenteral hepatitis in HIV-positive patients in Primorsky Krai. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2009, vol. 38, no. 4, pp. 80–82. (In Russ.)]
25. Сотниченко С.А., Попов А.Ф., Зима Л.Г., Парашенко Г.А., Кузьмина А.В. ВИЧ-инфекция в Приморском крае: эпидемиология, оппортунистические инфекции, перинатальная профилактика // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2011. Т. 45, № 3. С. 72–74. [Sotnichenko S.A., Popov A.F., Zima L.G., Parashchenko G.A., Kuzmina A.V. HIV-infection in Primorsky Krai: epidemiology, opportunistic infections, perinatal prevention. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2011, vol. 45, no. 3, pp. 72–74. (In Russ.)]
26. Софронова Н.Н., Хаертынова И.М. Современные аспекты эпидемиологии сочетанного течения ВИЧ-инфекции и хронического вирусного гепатита на территории Пермского края // *Общественное здоровье и здравоохранение*. 2012. № 3. С. 13–17. [Sofronova N.N., Khayertynova I.M. Modern aspects of the epidemiology of a combined course of HIV infection and chronic viral hepatitis in the Perm region. *Obshchestvennoe zdorov'e i zdravookhranenie = Public Health and Healthcare*, 2012, no. 3, pp. 13–17. (In Russ.)]
27. Томина Е.В., Скрипов В.С., Куркова Е.С., Есина К.М., Семенова Н.В., Кулаков Д.Д. Анализ первичной заболеваемости наркологическими расстройствами в субъектах, включающих города-миллионники, и субъектах без таких городов // *Национальное здравоохранение*. 2023. Т. 4, № 3. С. 33–41. [Tominina E.V., Skripov V.S., Kurkova E.S., Esina K.M., Semenova N.V., Kulakov D.D. Analysis of the primary incidence of drug addiction disorders in regions including cities with a population of over a million and regions without such cities. *Natsional'noe zdravookhranenie = National Health Care (Russia)*, 2023, vol. 4, no. 3, pp. 33–41. (In Russ.)] doi: 10.47093/2713-069X.2023.4.3.33-41
28. Чemezova Н.Н., Астафьев В.А., Малов С.И., Малов И.В., Кичигина Е.Л., Савилов Е.Д. Хронический вирусный гепатит С в Дальневосточном федеральном округе // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2018. Т. 73, № 3. С. 58–61. [Chemezova N.N., Astafev V.A., Malov S.I., Malov I.V., Kichigina E.L., Savilov E.D. Chronic viral hepatitis C in the Far Eastern Federal District. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2018, vol. 73, no. 3, pp. 58–61. (In Russ.)] doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.58-61
29. Шаркова В.А., Ковалев И.А., Скляр Л.Ф., Бениова С.Н., Юхименко А.В., Михалева Л.Д. Распространенность опийной наркомании, в том числе сочетанной с ВИЧ-инфекцией, в Приморском крае // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2018. Т. 10, № 2. С. 81–89. [Sharkova V.A., Kovalev I.A., Sklyar L.F., Beniova S.N., Yuchimenko A.V., Michaleva L.D. Prevalence of optical drug abuse, including combined with HIV infection, in the Primorsky Krai. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2018, vol. 10, no. 2, pp. 81–89. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2018-10-2-81-89
30. Шугаева С.Н., Савилов Е.Д., Кошкина О.Г., Чemezova Н.Н. Коинфекция ВИЧ/туберкулез на территории высокого риска распространения обеих инфекций // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2021. Т. 83, № 1. С. 56–58. [Shugayeva S.N., Savilov E.D., Koshkina O.G., Chemezova N.N. Coinfection of HIV/tuberculosis in the territory of high risk of spread of both infections. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2021, vol. 83, no. 1, pp. 56–58. (In Russ.)] doi: 10.34215/1609-1175-2021-1-56-58
31. Яковлев А.А., Лаптева Н.И. Интеграционная эпидемиология инфекций с гемоконтактным механизмом передачи (ВИЧ, гепатиты В и С) на модели Республики Саха (Якутия). Владивосток: Медицина ДВ, 2016. 112 с. [Yakovlev A.A., Lapteva N.I. Integration epidemiology of infections with blood-borne transmission (HIV, hepatitis B and C) using the model of the Republic of Sakha (Yakutia). *Vladivostok: Medicine DV*, 2016. 112 p. (In Russ.)]
32. Яковлев А.А., Савилов Е.Д. Проблемные вопросы общей эпидемиологии Новосибирск: Наука, 2015. 250 с. [Yakovlev A.A., Savilov E.D. Problematic issues of general epidemiology. *Novosibirsk: Nauka*, 2015. 250 p. (In Russ.)]
33. Ganesan M., Poluektova L.Y., Kharbanda K.K., Osna N.A. Human immunodeficiency virus and hepatotropic viruses co-morbidities as the inducers of liver injury progression. *World J. Gastroenterol.*, 2019, vol. 25, no. 4, pp. 398–410. doi: 10.3748/wjg.v25.i4.398;
34. Medrano L.M., Garcia-Broncano P., Berenguer J., González-García J., Jiménez-Sousa M.Á., Guardiola J.M., Crespo M., Quereda C., Sanz J., Canorea I., Carrero A., Hontañón V., Muñoz-Fernández M.Á., Resino S. Elevated liver stiffness is linked to increased biomarkers of inflammation and immune activation in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *AIDS*, 2018, vol. 32, no. 9, pp. 1095–1105. doi: 10.1097/QAD.0000000000001787

35. Portocarrero Nuñez J.A., Gonzalez-Garcia J., Berenguer J., Gallego M.J.V., Loyarte J.A.I., Metola L., Bernal E., Navarro G., Del Amo J., Jarrín I. Impact of co-infection by hepatitis C virus on immunological and virological response to antiretroviral therapy in HIV-positive patients. *Medicine (Baltimore)*, 2018, vol. 97, no. 38: e12238. doi: 10.1097/MD.00000000000012238;
36. Wandeler G., Mulenga L., Vinikoor M.J., Kovari H., Battagay M., Calmy A., Cavassini M., Bernasconi E., Schmid P., Bolton-Moore C., Sinkala E., Chi B.H., Egger M., Rauch A. Liver fibrosis in treatment-naïve HIV-infected and HIV/HBV co-infected patients: Zambia and Switzerland compared. *Int. J. Infect. Dis.*, 2016, no. 51, pp. 97–102. doi: 10.1016/j.ijid.2016.08.028

Авторы:

Базыкина Е.А., младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИД ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия;

Троценко О.Е., д.м.н., директор ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия;

Балахонцева Л.А., руководитель Дальневосточного окружного Центра по профилактике и борьбе со СПИД, ФБУН Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия;

Котова В.О., зав. лабораторией эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИД ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия.

Authors:

Bazykina E.A., Junior Researcher, Laboratory of Epidemiology and Prophylaxis of Viral Hepatitis and AIDS, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Khabarovsk, Russian Federation;

Trotsenko O.E., DSc (Medicine), Director of Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Khabarovsk, Russian Federation;

Balakhontseva L.A., Head of the Far Eastern Regional Center on Prevention and Combat Against AIDS, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Khabarovsk, Russian Federation;

Kotova V.O., Head of the Laboratory of Epidemiology and Prophylaxis of Viral Hepatitis and AIDS, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Khabarovsk, Russian Federation.

BIOINFORMATICALLY ANALYZED RELATIONSHIPS BETWEEN SPECIFIC HUMAN GENES ASSOCIATED WITH HIV ATTACHMENT

V.S. Davydenko^a, Yu.V. Ostankova^a, A.N. Schemele^a, E.V. Anufrieva^a, V.V. Kushnareva^a,
A.A. Totolian^{a,b}

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

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

Abstract. *Introduction.* Assessing interaction between the human immunodeficiency virus (HIV) and human factors is crucial for understanding the disease pathogenesis. HIV triggers an immune response that involves numerous cellular and molecular processes related to inflammation, cell migration, and disrupted tissue barrier functions. Such reactions build up a cascade in which chemokines and cognate co-receptors, as well as other molecules regulating the immune response, play a key role. However, the interaction between HIV and the human organism cannot be reduced to a simple mechanism because it represents a multilayered system where crucial molecules and events may be unknown or require further study. *Objective:* to assess a significance of candidate genes potentially involved in the pathogenesis of HIV infection during the phase of viral attachment to cell, based on assessing gene expression, localization, and involvement in biological pathways and processes. *Materials and methods.* The study compared the characteristics of the 100 most promising candidate genes (CG) according to the HumanNet web resource with background genes (*CCR5*, *CXCR4*, *CCR2*, *CD4*), known to be reliably linked to HIV attachment. Expression data, localization, and involvement in various cellular pathways and processes for the candidate and background genes were analyzed. A scoring system was developed to assess the significance of each gene in the context of its role in immune and inflammatory responses. *Results.* A total of 100 candidate genes were analyzed. Using the developed scoring system, a number of genes were identified as significant based on the analyzed parameter: 17 candidates — significant by expression profile; 7 — by localization; 17 — by involvement in biological pathways; and 25 — by involvement in biological processes. The final ranking revealed 55 candidate genes. The identified candidate genes were classified into the following functional groups: chemokine co-receptors and their ligands; genes and proteins associated with G-proteins; and a group for which a common functional role or family could not be established. *Conclusions.* The identified correlations between the candidate genes and background genes highlight the need to further investigate CG interactions in HIV pathogenesis allowing for a more detailed assessment of the contribution of both individual genes and entire systems, which, in the future, will expand our understanding of the molecular mechanisms behind HIV infection and, hypothetically, accelerate the discovery of new (or the expansion of existing) therapeutic models.

Key words: human immunodeficiency virus, virus-host interaction, protein-protein interactions, candidate genes, *in silico*, *CD4*, *CCR5*, *CXCR4*, *CCR2*.

Адрес для переписки:

Давыденко Владимир Сергеевич
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 962 108-69-07.
E-mail: vladimir_david@mail.ru

Contacts:

Vladimir S. Davydenko
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 962 108-69-07.
E-mail: vladimir_david@mail.ru

Для цитирования:

Давыденко В.С., Останкова Ю.В., Щемелев А.Н., Ануфриева Е.В.,
Кушнарева В.В., Тотолян А.А. Биоинформатический анализ
взаимосвязей между специфическими генами человека,
ассоциированными с прикреплением ВИЧ // Инфекция и иммунитет.
2024. Т. 14, № 6. С. 1153–1168. doi: 10.15789/2220-7619-BAR-17830

Citation:

Davydenko V.S., Ostankova Yu.V., Schemele A.N., Anufrieva E.V.,
Kushnareva V.V., Totolian A.A. Bioinformatically analyzed relationships
between specific human genes associated with HIV attachment // Russian
Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14,
no. 6, pp. 1153–1168. doi: 10.15789/2220-7619-BAR-17830

This research was supported by Russian Science Foundation grant 24-25-00479 "Assessing the potential significance of host genetic factors in human immunodeficiency virus infection and disease progression" (<https://rscf.ru/project/24-25-00479>)

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00479 от 29 декабря 2023 г. по теме «Оценка потенциальной значимости генетических факторов хозяина в инфицировании вирусом иммунодефицита человека и развитии заболевания» (<https://rscf.ru/project/24-25-00479>)

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ СПЕЦИФИЧЕСКИМИ ГЕНАМИ ЧЕЛОВЕКА, АССОЦИИРОВАННЫМИ С ПРИКРЕПЛЕНИЕМ ВИЧ

Давыденко В.С.¹, Останкова Ю.В.¹, Щемелев А.Н.¹, Ануфриева Е.В.¹, Кушнарева В.В.¹, Тотолян А.А.^{1,2}

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

² ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. *Введение.* Изучение взаимодействия вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) с факторами человеческого организма имеет ключевое значение для понимания патогенеза заболевания. ВИЧ вызывает иммунную реакцию, которая включает в себя множество клеточных и молекулярных процессов, связанных с воспалением, миграцией клеток и нарушением барьерных функций тканей. Эти реакции образуют каскад, в котором важную роль играют как хемокины и их корецепторы, так и другие молекулы, регулирующие иммунный ответ. Проблема состоит в том, что взаимодействие ВИЧ с человеческим организмом невозможно свести к простому механизму — это сложная система, в которой ключевые молекулы и механизмы могут быть неизвестны и требуют дальнейшего изучения. Целью исследования была оценка значимости генов-кандидатов, потенциально участвующих в патогенезе ВИЧ-инфекции на стадии прикрепления вируса к клетке, на основании оценки экспрессии, локализации и участия в биологических путях и процессах. *Материалы и методы.* В работе было проведено сравнение характеристик 100 наиболее перспективных генов-кандидатов (ГК) согласно веб-ресурсу HumanNet с фоновыми генами (*CCR5*, *CXCR4*, *CCR2*, *CD4*), для которых достоверно показана связь с прикреплением ВИЧ к клетке. Были проанализированы данные экспрессии, локализации, а также вовлеченности в различные клеточные пути и процессы генов-кандидатов и фоновых генов. В ходе работы была разработана система баллового ранжирования, которая позволила оценить значимость каждого гена в контексте его участия в иммунных и воспалительных реакциях. *Результаты.* Проанализировано 100 генов-кандидатов. С использованием разработанного метода баллового ранжирования ряд генов был определен, как значимый в зависимости от анализируемой характеристики: значимые по профилю экспрессии — 17 кандидатов, локализации — 7, участие в биологических путях — 17, в биологических процессах — 25. По результатам итогового ранжирования выявлено 55 ГК. Выявленные ГК были отнесены к следующим функциональным группам: хемокиновые корецепторы и их лиганды, гены и белки, связанные с G-белками, а также группа, для членов которой не удалось установить общую функциональную роль или семейство. *Выводы.* Выявленные корреляции между ГК и фоновыми генами акцентируют внимание на необходимости дальнейшего изучения взаимодействий ГК в патогенезе ВИЧ. Это позволит более детально оценить вклад как отдельных генов, так и целых систем, что, в дальнейшем, расширит наше понимание молекулярных механизмов ВИЧ-инфекции, а также, гипотетически, ускорит обнаружение новых или расширение существующих терапевтических моделей.

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека, взаимодействие вирус-хозяин, белок-белковые взаимодействия, гены-кандидаты, *in silico*, *CD4*, *CCR5*, *CXCR4*, *CCR2*.

Introduction

The disease caused by the human immunodeficiency virus (HIV) remains one of the most serious public health challenges worldwide. According to recent data, the number of people living with HIV reaches nearly 40 million [16]. HIV infection is characterized by a progressive destruction of the immune system, ultimately leading to acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). The primary methods for combating HIV infection remain the suppression and management of the infection through antiretroviral therapy (ART) [31].

ART involves the use of different classes of drugs that act on key stages of the viral life cycle, including cell entry, replication, integration into the genome, and the assembly of new viral particles [35]. Drug resistance mutations in HIV, resulting from its high genetic variability, remain a major challenge for antiretroviral therapy. These mutations can reduce the efficacy of drugs and contribute to multidrug resist-

ance, necessitating constant adaptation of treatment regimens and the search for new approaches [22, 37]. The use of combination therapy involving multiple drugs helps reduce the risk of resistance, but the life-long nature of therapy leaves a risk of disease recurrence even with full adherence by the patient [22].

Progression of the disease is influenced not only by viral characteristics, but also by individual human host features, primarily those that are genetically determined. HIV attachment to the cell occurs by binding to the CD4 receptor and chemokine co-receptors CCR5 and CXCR4. A well-known mutation in the *CCR5* gene, *CCR5-Δ32*, has a prevalence ranging from 7.8% to 25% in different Russian regions [5, 6]. This deletion provides partial, or complete, resistance to HIV infection by preventing viral entry into cells [23]. Based on this data, a group of drugs has been developed that target interactions between human and viral proteins, aimed at blocking co-receptors, which plays a key role in preventing viral entry into cells.

In contrast, no mutations analogous to delta 32 have been found in the *CXCR4* gene. However, it has been shown that several mutations in this gene are presumably linked to the development of certain diseases, such as WHIM syndrome (rs104893625, rs104893624) [17], while the effects of other mutations on the human body remain to be elucidated.

Although these proteins are reliably linked to HIV attachment to the cell, it should be noted that the virus with specific tropism attaches only to one of the two co-receptors, although dual-tropic variants of HIV also exist. During the progression of infection, a shift in the primary tropism of the virus occurs through a mechanism whereby HIV-1 variants using *CXCR4* suppress the replication of *CCR5*-dependent HIV-1 variants, whereas *CCR5*-dependent variants do not affect the replication of *CXCR4*-dependent HIV [18].

An additional co-receptor involved in viral attachment is *CCR2* [14]. Genetic variations in the *CCR2* gene may influence the rate of HIV progression, making it an important target for study [29].

The described proteins are involved in inflammatory processes through chemotaxis and recruitment of other cells. *CXCR4* also plays a role in embryo attachment to the uterine wall. Given that these proteins are receptors involved in significant signaling cascades in the body, understanding their function is crucial. Given the vast number of human genes, experimental identification of key genes, and their polymorphic variants, is an extremely challenging task. In this regard, a preliminary search for candidate genes (CGs) using bioinformatic analysis is a necessary and effective approach, which allows narrowing down the potential targets for further study.

To date, a significant amount of information has been collected regarding the functioning of individual immune system components and their interaction with the virus. Integrating them into unified models, however, remains a complex challenge. Studying the links between genes encoding chemokine co-receptors associated with viral attachment to the cell and other human genes is important. The results of such studies will not only help to better understand the pathogenesis of HIV infection, but also facilitate further research into polymorphic variants of these genes that may either accelerate disease progression or, conversely, slow it down.

Modern bioinformatic methods significantly accelerate the analysis of large volumes of data and identification of key molecular mechanisms. Building and analyzing complex interaction networks between the virus and host cells can reveal new patterns, shift the focus to underexplored elements, and assess their contribution to the development and progression of HIV infection [19].

Thus, the identification of candidate genes interacting with chemokine co-receptors and associated with HIV progression could become an important

step towards creating new treatment and prevention strategies for the disease. The objective of the study was to assess the significance of candidate genes potentially involved in the pathogenesis of HIV infection during the phase of viral attachment to the cell, based on evaluation of gene expression, localization, and involvement in biological pathways and processes.

Materials and methods

Given the significance of the process of viral entry into the cell for the pathogenesis of HIV infection, the focus was on genes encoding proteins that are reliably associated with human infection at the stage of viral entry. In particular, the *CD4* receptor in addition to chemokine co-receptors *CCR5*, *CXCR4*, and *CCR2* (hereafter referred to as background genes, BG) were a focus since the proteins encoded by these genes play a crucial role in cell infection (specifically at the stage of viral attachment) and are involved in regulatory processes of the HIV life cycle [3, 36].

The HumanNetv3 web application was used to analyze genetic and protein-protein networks. Three types of networks were analyzed during the study: the physical protein interaction network (HumanNet-PI); the functional gene network (HumanNet-FN); and the functional network expanded by co-citation (HumanNet-XC). As of 2023, the physical interaction network included 17 849 genes and 633 460 connections [23].

To identify the biological context of the selected candidate genes (CG), the functional mapping and gene annotation web resource FUMA GWAS in GENE2FUNC mode (<https://fuma.ctglab.nl/gene2func>) was used. The FUMA GWAS application was used under the following conditions: Ensembl version 92, GTEx v8 expression dataset, 30 major tissue types, Benjamini–Hochberg correction method for gene set enrichment testing (FDR), maximum adjusted gene set association P-value < 0.05, and minimum number of overlapping genes with gene sets ≥ 2 .

Additionally, statistical correlation analysis (using Pearson's criterion at p-value 0.05) was performed for gene representation relative to each other in protein localization and other genetic products of the studied genes, as well as their involvement in biological pathways.

For individual CGs that demonstrated a significant functional, spatial, or other type of association with BG (according to FUMA GWAS analysis), available scientific literature was reviewed to investigate and confirm their significance in the context of the detected associations.

As part of the research methodology, an analysis was conducted to identify CGs potentially related to HIV pathogenesis. At the initial stage,

the HumanNet resource was used for the preliminary search of CGs, followed by evaluation of the reliability of the identified relationships using AUROC analysis. The FUMA GWAS tool in GENE2FUNC mode was used to perform a comprehensive analysis of the identified CGs, which included an assessment of gene expression level and tissue specificity, product localization, and their involvement in various biological pathways and processes.

Scoring System

Expression. The expression profile of BG was evaluated in various bodily tissues. The inclusion criterion for a tissue in the analysis was a gene expression level \log_2 of no less than 2.51 (average expression level). Tissues with low BG expression levels were excluded from analysis. For CGs, the proportion of instances of co-expression of the genes with BG in selected tissues was evaluated.

The candidate gene score (CGS) was calculated using the following formula:

$$CGS(EXP) = f_{eCCR5} + f_{eCXCR4} + \frac{(f_{eCCR2} + f_{eCD4})}{2} + f_{eCCR5} \times f_{eCXCR4},$$

where f represents the frequency of matching CG expression profiles with BG. The formula accounts for the contribution of the relationship with each BG, as well as the combined contribution of CG association with the two main co-receptors for HIV-1 attachment. CCR5 and CXCR4 are the main co-receptors for attachment, so the relationship with them has greater weight than with CD4 and CCR2.

Localization, biological pathways, and biological processes. To assess the contribution of CGs to BG based on intersections in localization, participation in the same biological pathways, and biological processes (hereafter “characteristics”), based on FUMA GWAS data in GENE2FUNC mode, tables of localization/participation in biological pathways or processes were constructed for each analysis. In binary format (1 — present, 0 — absent), the participation/localization of CG and BG was indicated. Based on the resulting table, a correlation table was built using the four-point phi correlation method (analogous to the Pearson method for dichotomous variables), and correlations with BG were considered. The total score for each individual analysis was calculated using the following formula:

$$CGS(loc. or. proc. or path) = k_{CCR5} + k_{CXCR4} + \frac{k_{CCR2} + k_{CD4}}{2} + k_{CCR5} \times k_{CXCR4},$$

where k represents the correlation level of the candidate gene with the background gene at p -value < 0.05 . At p -value > 0.05 , the correlation value was considered to be 0. The formula also accounts for the contribution of the relationship with each BG and the combined contribution of CG association with the two main co-receptors for HIV-1 attachment.

Final scoring system. Based on the results of each scoring stage, given that specific contributions (expression, localization, participation in biological pathways, participation in biological processes) were assessed equally, the final CG score was considered to be the sum of the points obtained from each scor-

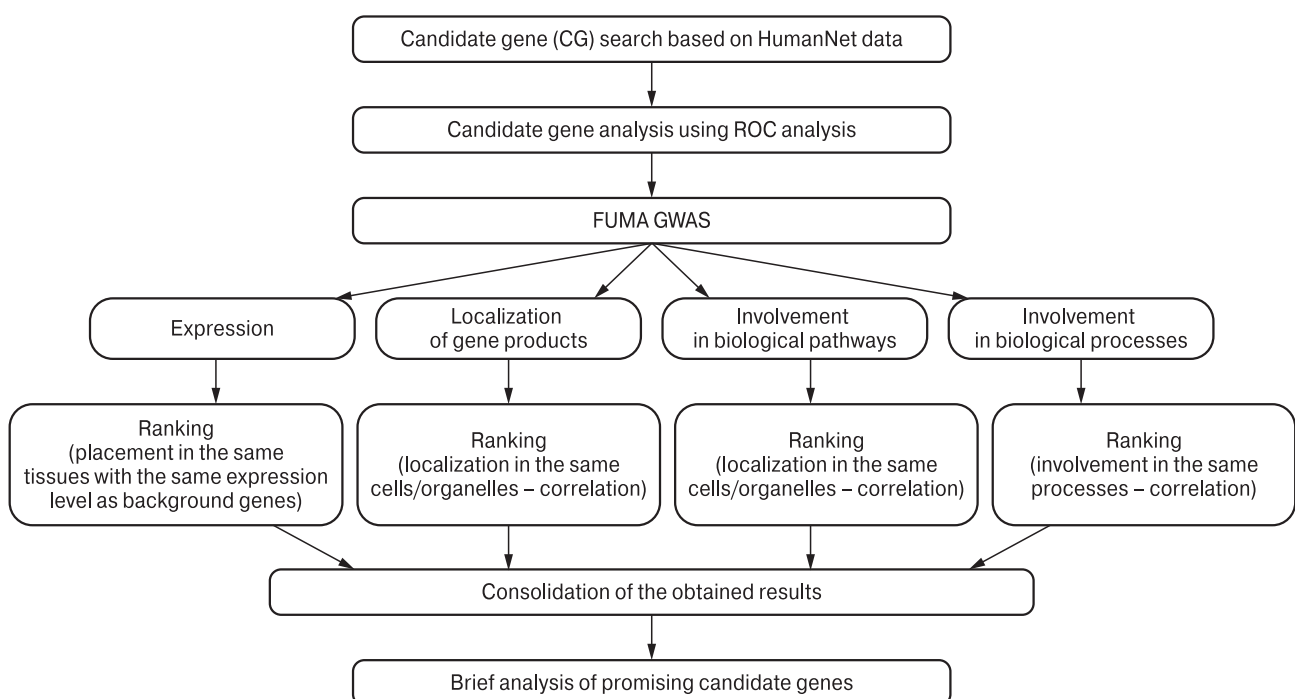


Figure 1. Study design

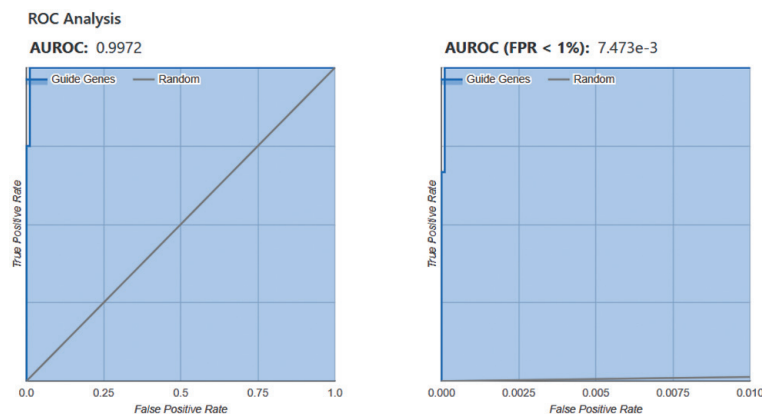


Figure 2. AUROC prediction of identified HumanNet candidate genes, calculated relative to background genes (*CCR5*, *CXCR4*, *CD4*, *CCR2*) with a false-positive rate cutoff of 1%

ing stage. The maximum score for each stage was 4, and the maximum total score was 16. To enhance the significance of CGs with common characteristics, additional points were assigned: for scores in 2 characteristics, CGs received 2 points; in 3 characteristics, 3 points; and in 4 characteristics, 4 points. The threshold value for the total score was set at 2, as this value corresponds to two established relationships with key BG co-receptors *CCR5* and *CXCR4*. Thus, CGs with this score, or higher, were evaluated as significant for the pathogenesis of HIV infection. The design of the analysis is presented in Fig. 1.

Results

Candidate genes. Based on the analysis of HumanNetv3, 659 genes potentially associated with the function of background proteins were identified. Using ROC analysis, false-positive results were reduced to 1% (Fig. 2).

Based on the final results, false-positive candidates were filtered out, and the selected genes were ranked according to evaluation of their association levels. The threshold value used to identify the most probable candidate genes, reflecting their proximity to other genes according to the neighbor relationship ranking rule, was set at 5.844. This resulted in a list of 100 genes, ranked by association scores ranging from 5.844 to 8.589, which potentially impact the course of HIV infection. The identified candidate genes, and their encoded proteins, can be classified into general functional groups as shown in Table 1.

Expression. For the identified candidate genes, a tissue-specific expression map was generated using the FUMA GWAS web resource. The map is shown in Fig. 3.

For assessment of expression levels, the following scale was used: Maximum (5.672), High (from 3.51 to 5.671), Medium (from 2.51 to 3.5), Low (from 1.51 to 2.5), and Minimal (from 0 to 1.5). For *CCR5*,

Table 1. The main functional groups of the GC

Functional group	Genes
Chemokines and their receptors	<i>CCL5</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCL27</i> , <i>CCL25</i> , <i>CCL20</i> , <i>CCL19</i> , <i>CXCL12</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>CXCL2</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCR10</i> , <i>CCR9</i> , <i>CXCR5</i> , <i>CXCR3</i> , <i>CXCR6</i> , <i>ACKR3</i>
G-proteins and associated receptors, including serpentine receptors	<i>GNAI2</i> , <i>GNAI1</i> , <i>GNA13</i> , <i>S1PR5</i> , <i>S1PR3</i> , <i>S1PR2</i> , <i>GPR18</i> , <i>HCAR2</i> , <i>HCAR3</i> , <i>HCAR1</i> , <i>OXGR1</i> , <i>GPER1</i> , <i>OXER1</i>
Taste receptors	<i>TAS2R</i> (<i>TAS2R46</i>), <i>TAS2R43</i> , <i>TAS2R40</i> , <i>TAS2R30</i> , <i>TAS2R9</i> , <i>TAS2R3</i> , <i>TAS2R16</i> , <i>TAS2R4</i> , <i>TAS2R1</i> , <i>TAS2R39</i> , <i>TAS2R50</i> , <i>TAS2R20</i> , <i>TAS2R38</i> , <i>TAS2R13</i> , <i>TAS2R60</i> , <i>TAS2R8</i> , <i>TAS2R14</i> , <i>TAS2R10</i> , <i>TAS2R5</i> , <i>TAS2R31</i> , <i>TAS2R42</i> , <i>TAS2R7</i> , <i>TAS2R41</i> , <i>TAS2R19</i>
Neuropeptide and neurotransmitter receptors	<i>NPY5R</i> , <i>NPY1R</i> , <i>GALR2</i> , <i>GALR3</i> , <i>GALR1</i> , <i>HTR1F</i> , <i>HTR5A</i> , <i>HTR1D</i> , <i>HTR1E</i> , <i>HTR1A</i> , <i>HRH3</i> , <i>HRH4</i> , <i>OPRK1</i> , <i>FPR3</i> , <i>CHRM2</i>
Adrenergic receptors	<i>ADRA2B</i> , <i>ADRA2A</i> , <i>ADRA2C</i>
Purinergic receptors	<i>P2RY13</i> , <i>P2RY4</i> , <i>P2RY14</i>
Somatostatin receptors	<i>SSTR4</i> , <i>SSTR2</i> , <i>SSTR5</i> , <i>SSTR1</i> , <i>SSTR3</i>
Peptide receptors	<i>NPBWR1</i> , <i>NPBWR2</i> , <i>NPW</i> , <i>PPY</i> , <i>PYY</i> , <i>APLN</i> , <i>PENK</i> , <i>PDYN</i> , <i>PNOC</i> , <i>SST</i>
Receptors not included in the above groups	<i>SUCNR1</i> , <i>TMIGD3</i> , <i>RXFP3</i> , <i>RXFP4</i>
Functionally significant non-receptor type proteins	<i>ANXA1</i> , <i>HEBP1</i>

the average expression level in the spleen is 3.361. It is low in the lungs (2.479), small intestine (terminal ileum) (2.359), and whole blood (1.994). In other tissues, the expression level is minimal. For *CXCR4*, there is a broad representation of tissues with varying expression levels. The maximum expression level is observed in the spleen (5.672). A high level of expression is shown in 32 tissues, including whole blood (5.671), lungs (5.650), and the small intestine (5.375).

According to the heat map data, the highest expression levels for the background genes (BGs) were found in the following tissues and organs: lungs, terminal ileum, spleen, and whole blood. It is worth noting that for the *CCR5* gene, expression is found in fewer tissues at lower levels compared to *CXCR4* expression.

When performing scoring ranking for *CCR5* and *CCR2*, due to the small number of tissues with medium expression levels, four tissues with the highest expression were selected. For *CCR5*, the cutoff expression level was 1.994, corresponding to the expression level in whole blood. For *CCR2*, the cutoff was 2.394 (small intestine — terminal ileum).

Based on the evaluation of expression profiles and levels, the following candidate genes (CGs) were identified with the highest co-expression with background genes (BGs):

***CCR5*:** *ANXA1*, *CCR7*, *GNA13*, *GNAI2*, *HEBP1*, *OXER1*, *P2RY13* (all 100%);

***CXCR4*:** *GNA13* (100%), *GNAI2* (100%), *HEBP1* (98%), *ACKR3* (96%), *ANXA1* (93%), *GNAI1* (93%);

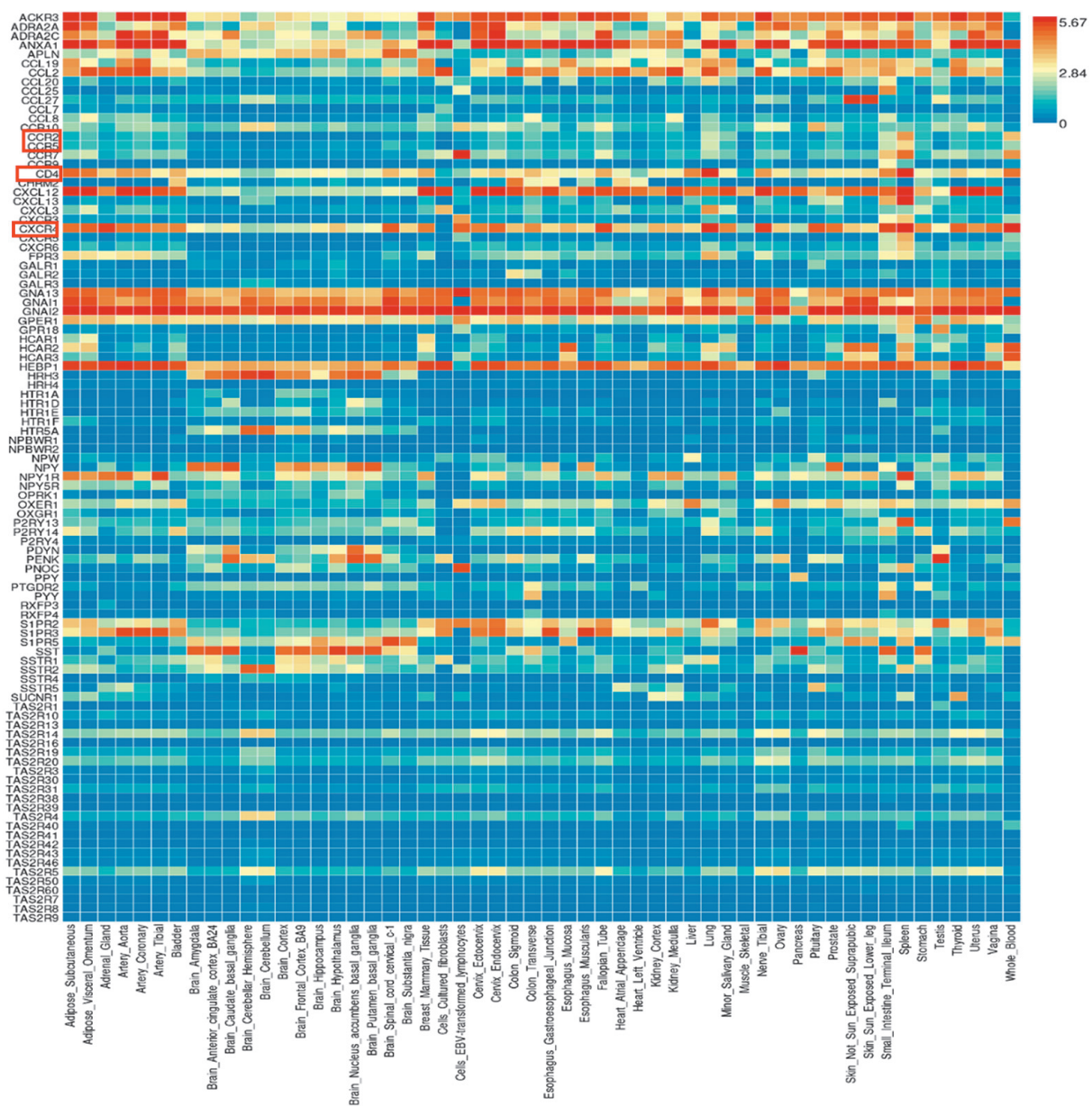


Figure 3. Tissue-specific expression map for background genes (*CCR5*, *CXCR4*, *CD4*, *CCR2*) and candidate genes (CGs). *CCR5*, *CXCR4*, *CD4*, and *CCR2* are highlighted with a red border

CCR2: *ANXA1*, *GNAI3*, *GNAI2*, *HEBP1*, *P2RY13* (all 100%);

CD4: *GNAI3* (100%), *GNAI2* (100%), *HEBP1* (100%), *ACKR3* (96%), *ANXA1* (96%), *GNAI1* (96%).

As a result of this analysis, the following candidate genes were identified with the highest biological gene co-expression scores: *GNAI3* (4.00), *GNAI2* (4.00), *HEBP1* (3.96), *ANXA1* (3.84), *ACKR3* (3.28), *GNAI1* (3.24), *CXCL12* (3.01), *CCL2* (2.88), *GPER1* (2.86), *CXCL2* (2.63), *ADRA2C* (2.54), *OXER1* (2.53), *SIPR3* (2.53), *SIPR2* (2.48), *CCL19* (2.48), and *ADRA2A* (2.43).

Localization of gene products. In addition to the expression localization of candidate genes, it is important to evaluate the localization of the products of these genes. The products of candidate genes may interact with chemokine coreceptors and initiate a cascade of reactions. On the other hand, gene expression products do not necessarily “reside” in the same cell where the expression occurs, and their influence can extend to areas where their products are localized. The cellular localization of candidate gene products is shown in Fig. 4.

For a significant number of candidate genes (*HTR1D*, *GNAI2*, *HTR1F*, *NPY1R*, *NPY5R*, *HTR1A*, *HTR1E*, etc.), multiple localization points of their products are shown.

For the products of the genes *CXCR4*, *CD4*, and *CCR5*, only localization in the cell membrane is shown, approaching the level of significance. To rank the significance of the candidate gene products, a correlation analysis between gene pairs was performed. Since the products of *CCR5*, *CXCR4*, and *CD4* do not have a shared localization with the products of other genes, the correlation assessments were conducted with respect to *CCR2*.

The products of the *CCR2* gene, in combination with the products of other genes, have a broad spectrum of cellular localization, but they are also localized in structures associated with neurons and dendritic cells. The majority of gene products from the candidate genes studied are localized in the following cells: neurons, somatodendritic, and dendritic cells.

The list of candidate genes for which correlations of gene product localization with *CCR2* were identified ($p < 0.05$) includes *HTR5A* (0.87), with high correlation. It also includes those with moderate correlation: *HTR1D* (0.55), *HTR1F* (0.55), *HTR1A* (0.55), *HTR1E* (0.55), *HRH4* (0.55), and *OPRK1* (0.54). The candidate genes with their ranking scores for this stage were: *HTR5A* (0.44), *HTR1D* (0.28), *HTR1F* (0.28), *HTR1A* (0.28), *HTR1E* (0.28), *HRH4* (0.28), and *OPRK1* (0.27).

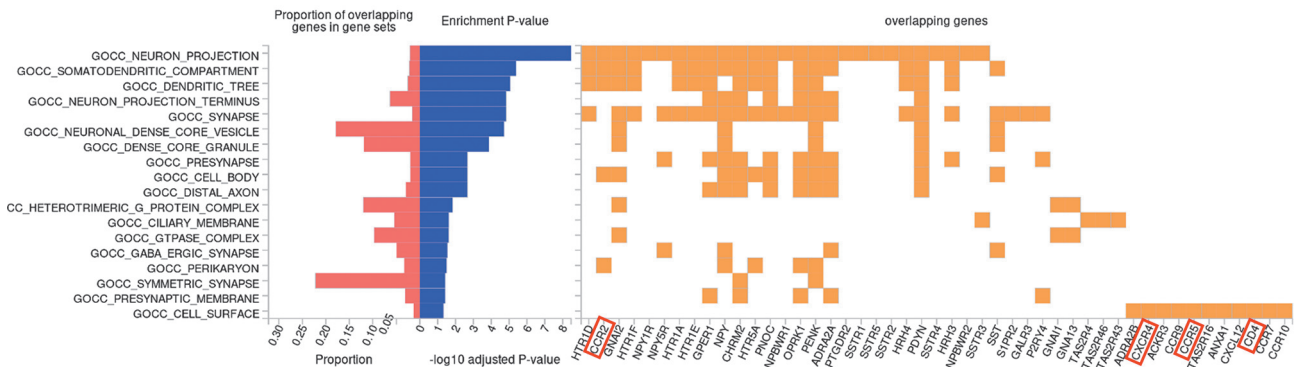


Figure 4. Localization of gene products. Candidate genes (CGs) are presented along the horizontal axis, while cell types and/or their structures are on the vertical axis. Background genes (*CCR5*, *CXCR4*, *CD4*, *CCR2*) are marked with a red border

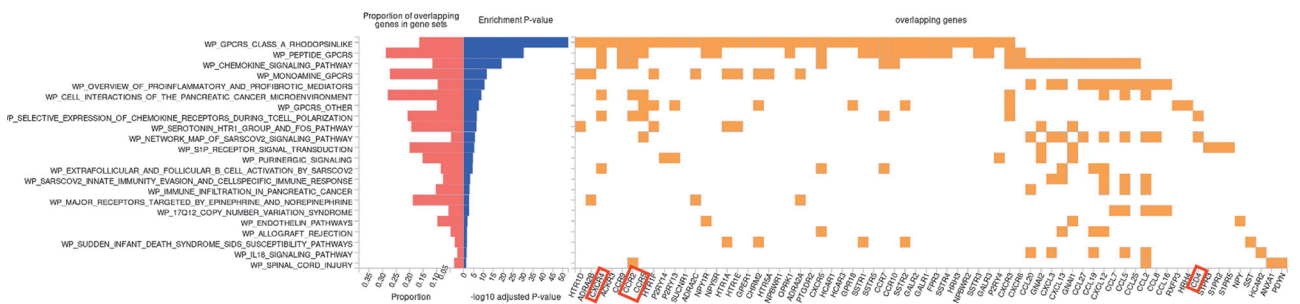


Figure 5. Biological pathway annotation for BG, CG, their proteins, and metabolites ($p < 0.05$). CG are represented on the horizontal axis; biological pathways are on the vertical axis. BG (*CCR5*, *CXCR4*, *CD4*, *CCR*) are marked. Analysis obtained in GENE2FUNC mode using WikiPathways data

Table 2. Participation of BG and CG in biological processes according to GENE2FUNC. Results are ranked by level of evidential significance. The items include processes with the presence of chemokine receptor genes (*CCR5*, *CXCR4*, *CCR2*, *CD4*) or processes related to viral activity

Rank	Participation	Genes	P-value
1	G-protein-coupled receptor (GPCR) signaling pathway	<i>HTR1D</i> , <i>RXFP4</i> , <i>OXER1</i> , <i>ADRA2B</i> , <i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>ACKR3</i> , <i>CCR9</i> , <i>CXCR6</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>GNAI2</i> , <i>HTR1F</i> , <i>P2RY14</i> , <i>P2RY13</i> , <i>SUCNR1</i> , <i>SST</i> , <i>ADRA2C</i> , <i>NPY1R</i> , <i>NPY5R</i> , <i>TAS2R1</i> , <i>RXFP3</i> , <i>HTR1A</i> , <i>HTR1E</i> , <i>GPER1</i> , <i>NPY</i> , <i>GNAI1</i> , <i>TAS2R16</i> , <i>CHRM2</i> , <i>TAS2R3</i> , <i>TAS2R4</i> , <i>TAS2R5</i> , <i>TAS2R38</i> , <i>TAS2R39</i> , <i>TAS2R40</i> , <i>TAS2R60</i> , <i>TAS2R41</i> , <i>HTR5A</i> , <i>PNOC</i> , <i>NPBWR1</i> , <i>OPRK1</i> , <i>PENK</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>S1PR3</i> , <i>CXCL12</i> , <i>ADRA2A</i> , <i>PTGDR2</i> , <i>CXCR5</i> , <i>TAS2R7</i> , <i>TAS2R8</i> , <i>TAS2R9</i> , <i>TAS2R10</i> , <i>TAS2R13</i> , <i>TAS2R14</i> , <i>TAS2R50</i> , <i>TAS2R20</i> , <i>TAS2R19</i> , <i>TAS2R31</i> , <i>TAS2R46</i> , <i>TAS2R43</i> , <i>TAS2R30</i> , <i>TAS2R42</i> , <i>HCAR1</i> , <i>HCAR2</i> , <i>HCAR3</i> , <i>OXGR1</i> , <i>GPR18</i> , <i>SSTR1</i> , <i>SSTR5</i> , <i>NPW</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCR10</i> , <i>PPY</i> , <i>PYY</i> , <i>GNA13</i> , <i>SSTR2</i> , <i>GALR2</i> , <i>HRH4</i> , <i>GALR1</i> , <i>CCL25</i> , <i>S1PR2</i> , <i>S1PR5</i> , <i>FPR3</i> , <i>PDYN</i> , <i>SSTR4</i> , <i>HRH3</i> , <i>NPBWR2</i> , <i>SSTR3</i> , <i>GALR3</i> , <i>P2RY4</i> , <i>CXCR3</i> , <i>APLN</i>	4.77e-123
2	Chemokine signaling pathway	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>ACKR3</i> , <i>CCR9</i> , <i>CXCR6</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>CCL19</i> , <i>CXCL12</i> , <i>CXCR5</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCR10</i> , <i>CCL25</i> , <i>CXCR3</i>	1.03e-30
3	Leukocyte chemotaxis	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>CXCR5</i> , <i>GPR18</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCL25</i>	6.44e-18
4	Cellular chemotaxis	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>CCL27</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>CXCR5</i> , <i>GPR18</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCL25</i>	2.98e-17
5	Taxis	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>CCR9</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>SUCNR1</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>CCL27</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>PTGDR2</i> , <i>CXCR5</i> , <i>GPR18</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCL25</i> , <i>FPR3</i> , <i>CXCR3</i>	4.47e-17
6	Cytokine-mediated signaling pathway	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>ACKR3</i> , <i>CCR9</i> , <i>CXCR6</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>CCL19</i> , <i>CXCL12</i> , <i>CXCR5</i> , <i>CD4</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCR10</i> , <i>CCL25</i> , <i>CXCR3</i>	6.01e-17
7	Locomotion	<i>HTR1D</i> , <i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>ACKR3</i> , <i>CCR9</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>GNAI2</i> , <i>SUCNR1</i> , <i>SST</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>GPER1</i> , <i>OPRK1</i> , <i>CCL27</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>ADRA2A</i> , <i>PTGDR2</i> , <i>CXCR5</i> , <i>GPR18</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>GNA13</i> , <i>CCL25</i> , <i>S1PR2</i> , <i>FPR3</i> , <i>CXCR3</i>	1.46e-16
8	Leukocyte migration	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>CXCR5</i> , <i>GPR18</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCL25</i> , <i>CXCR3</i>	2.43e-15
9	Inflammatory response	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>CXCR6</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>SUCNR1</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>NPY5R</i> , <i>GPER1</i> , <i>NPY</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>S1PR3</i> , <i>ADRA2A</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>HRH4</i> , <i>CCL25</i> , <i>FPR3</i> , <i>CXCR3</i>	4.66e-15
10	Mononuclear cell migration	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>CXCL13</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCL25</i>	4.70e-15
11	Immune response	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>ACKR3</i> , <i>CCR9</i> , <i>CXCR6</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>SUCNR1</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>NPY5R</i> , <i>GPER1</i> , <i>NPY</i> , <i>OPRK1</i> , <i>CCL27</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>PTGDR2</i> , <i>CXCR5</i> , <i>CD4</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCR10</i> , <i>CCL25</i> , <i>FPR3</i> , <i>CXCR3</i> , <i>APLN</i>	3.15e-14
12	Response to organic cyclic compounds	<i>HTR1D</i> , <i>CXCR4</i> , <i>CCR5</i> , <i>HTR1F</i> , <i>P2RY13</i> , <i>SST</i> , <i>HTR1A</i> , <i>HTR1E</i> , <i>GPER1</i> , <i>GNAI1</i> , <i>CHRM2</i> , <i>HTR5A</i> , <i>OPRK1</i> , <i>PENK</i> , <i>ANXA1</i> , <i>SSTR1</i> , <i>SSTR5</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL5</i> , <i>SSTR2</i> , <i>HRH4</i> , <i>SSTR4</i> , <i>HRH3</i> , <i>SSTR3</i> , <i>P2RY4</i>	3.87e-14
13	Response to cytokines	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>ACKR3</i> , <i>CCR9</i> , <i>CXCR6</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>GPER1</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>CXCR5</i> , <i>CD4</i> , <i>SSTR1</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>CCR10</i> , <i>CCL25</i> , <i>CXCR3</i>	4.38e-14
14	Response to oxygen-containing compounds	<i>HTR1D</i> , <i>CXCR4</i> , <i>CCR5</i> , <i>GNAI2</i> , <i>HTR1F</i> , <i>SUCNR1</i> , <i>SST</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>HTR1A</i> , <i>HTR1E</i> , <i>GPER1</i> , <i>GNAI1</i> , <i>CHRM2</i> , <i>HTR5A</i> , <i>OPRK1</i> , <i>PENK</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>ADRA2A</i> , <i>SSTR1</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCR7</i> , <i>SSTR2</i> , <i>HRH4</i> , <i>HRH3</i> , <i>SSTR3</i> , <i>P2RY4</i>	3.46e-12
15	Cell motility	<i>CXCR4</i> , <i>CCL20</i> , <i>ACKR3</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>GNAI2</i> , <i>SST</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CXCL13</i> , <i>GPER1</i> , <i>CCL27</i> , <i>CCL19</i> , <i>ANXA1</i> , <i>CXCL12</i> , <i>ADRA2A</i> , <i>CXCR5</i> , <i>GPR18</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL7</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCL16</i> , <i>CCR7</i> , <i>GNA13</i> , <i>CCL25</i> , <i>S1PR2</i> , <i>SSTR4</i> , <i>CXCR3</i>	3.35e-10
16	Chemotaxis of dendritic cells	<i>CXCR4</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>CCL19</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCR7</i>	1.07e-9
17	Migration of dendritic cells	<i>CXCR4</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>CCL19</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCR7</i>	5.05e-9
18	Calcium ion transport	<i>CXCR4</i> , <i>CCR5</i> , <i>GNAI2</i> , <i>GPER1</i> , <i>CCL19</i> , <i>CXCL12</i> , <i>ADRA2A</i> , <i>CD4</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCR7</i>	3.69e-7
19	Transport of monatomic ions	<i>CXCR4</i> , <i>CCR2</i> , <i>CCR5</i> , <i>GNAI2</i> , <i>HTR1A</i> , <i>GPER1</i> , <i>OPRK1</i> , <i>CCL19</i> , <i>CXCL12</i> , <i>ADRA2A</i> , <i>CD4</i> , <i>CCL2</i> , <i>CCL8</i> , <i>CCL5</i> , <i>CCR7</i> , <i>GALR2</i> , <i>HRH3</i> , <i>P2RY4</i>	2.73e-6

Rank	Participation	Genes	P-value
20	Biological processes related to interspecies interaction between organisms	<u>CXCR4</u> , CCL20, <u>CCR5</u> , CXCL3, CXCL13, GPER1, CHRM2, OPRK1, PENK, CCL19, ANXA1, CXCL12, <u>CD4</u> , CCL2, CCL7, CCL8, CCL5, CCL16, CCR7, CCL25	8.26e-6
21	Homeostatic processes	<u>CXCR4</u> , <u>CCR2</u> , <u>CCR5</u> , GNAI2, SUCNR1, GPER1, NPY, OPRK1, CCL19, ANXA1, CXCL12, ADRA2A, HCAR2, SSTR5, CCL2, CCL7, CCL8, CCL5, CCR7, P2RY4	1.54e-5
22	Transport of monovalent cations	<u>CXCR4</u> , <u>CCR5</u> , GNAI2, GPER1, OPRK1, CCL19, CXCL12, ADRA2A, <u>CD4</u> , CCL2, CCL8, CCL5, CCR7, GALR2	1.00e-4
23	Response to virus	<u>CXCR4</u> , CHRM2, OPRK1, PENK, CCL19, CXCL12, CCL8, CCL5	2.41e-4
24	Viral life cycle	<u>CXCR4</u> , CXCR6, <u>CCR5</u> , <u>CD4</u> , CCL2, CCL8, CCL5	3.51e-4
25	Calcium ion-mediated signaling	<u>CXCR4</u> , CCL20, <u>CCR5</u> , PTGDR2, <u>CD4</u>	1.05e-3
26	Signaling mediated by second messengers	<u>CXCR4</u> , CCL20, <u>CCR5</u> , GNAI1, PTGDR2, <u>CD4</u>	1.34e-3
27	Viral processes	<u>CXCR4</u> , CXCR6, <u>CCR5</u> , <u>CD4</u> , CCL2, CCL8, CCL5	1.85e-3

Biological pathways. A biological pathway analysis was conducted in which the functional groups, candidate genes, and their products are involved. The analysis is shown in Fig. 5.

The main functional groups of genes, their proteins, and metabolites are associated with G-proteins, peptide signaling pathways of G-proteins, chemokine signaling pathways that influence inflammatory processes, as well as those related to monoamine receptors. The three biological pathways with the highest p-values were: **WP_GPCRS_CLASS_A_RHODOPSLIKE** (rhodopsin-like receptors, G-protein coupled class A) with the highest p-value; **WP_PEPTIDE_GPCRS** (peptide receptors, G-protein coupled); and **WP_CHEMOKINE_SIGNALING_PATHWAY** (chemokine signaling pathways). The presence of CCR2, CXCR4, and, partially, CCR5 in these pathways indicates their important role in these biological processes.

Based on the assessment of the participation of candidate genes and their products, in combination with genes/products of BG in biological pathways, the following candidate genes were identified for each BG with the highest level of correlation ($p < 0.05$):

CCR5: CXCR3 (0.77), NPY5R (0.52), OPRK1 (0.52), GPR18 (0.52), SSTR5 (0.52), GALR2 (0.52), GALR1 (0.52), FPR3 (0.52), SSTR4 (0.52), SSTR3 (0.52), GALR3 (0.52), SSTR2 (0.51).

CXCR4: CCR7 (0.89), CXCR3 (0.77), CCR10 (0.65), CCR9 (0.65), CXCR5 (0.65), FPR3 (0.52), GALR1 (0.52), GALR2 (0.52), GALR3 (0.52), NPY5R (0.52), OPRK1 (0.52), SSTR3 (0.52), SSTR4 (0.52), SSTR5 (0.52), CXCR6 (0.52).

CCR2: CXCR3 (0.68), CCR7 (0.57), CCR10 (0.59), CCR9 (0.59), FPR3 (0.47), GALR1 (0.47), GALR2 (0.47), GALR3 (0.47), NPY5R (0.47), OPRK1 (0.47), SSTR3 (0.47), SSTR4 (0.47), SSTR5 (0.47), CXCR6 (0.47).

No significant correlations were found for CD4. The scoring summary for the participation of CG

in biological pathways in combination with BG was: CXCR3 (2.49), CCR7 (1.17), CCR10 (0.95), CCR9 (1.54), CXCR5 (0.65), FPR3 (1.54), GALR1 (1.54), GALR2 (1.54), GALR3 (1.54), NPY5R (1.54), OPRK1 (1.54), SSTR3 (1.54), SSTR4 (1.54), SSTR5 (1.54), CXCR6 (0.75), GPR18 (0.52), and SSTR2 (0.51).

Biological processes. In functional mapping of the analyzed genes, their involvement in 343 biological processes was determined. Those shown only include processes in which functional groups and/or their products participate (Table 2).

Evaluation of the participation of candidate genes and their products in biological processes. Based on assessment of the participation of candidate genes (CG) and their products in combination with genes/products of BG in biological processes, the following CG were identified for each BG with the highest level of correlation ($p < 0.05$):

CCR5: CXCL3 (0.57), CCL8 (0.48), CXCR6 (0.40), CXCR5 (0.37), CCL7 (0.36), CCL5 (0.35), CCL27 (0.35), CCR7 (0.35), CXCR3 (0.34), CCR9 (0.32), CCR10 (0.32), CCL2 (0.31).

CXCR4: CXCR3 (0.43), CXCL12 (0.41), SUCNR1 (0.34), CXCR6 (0.32), ACKR3 (0.31).

CCR2: CCL5 (0.38), CXCL12 (0.38), CCL2 (0.37), CXCL13 (0.35), ANXA1 (0.34), CXCR3 (0.32), CCL7 (0.31), CCL19 (0.31).

CD4: CCL2 (0.44), CCR7 (0.38), CCL19 (0.38), CCL5 (0.36), CCL25 (0.30).

The scoring summary for CG "Participation in Biological Processes in Combination with Functional Groups and Scores Above 0.5" was: CXCR3 (1.14), CCL2 (1.074), CCL8 (1.047), CXCR6 (1.03), CXCL3 (1.02), CCL5 (0.97), CCR7 (0.962), CXCR5 (0.93), CCL19 (0.92), CXCL12 (0.91), CCR9 (0.89), CCL7 (0.84), CCR10 (0.82), CXCL13 (0.81), CCL20 (0.76), ACKR3 (0.76), CCL27 (0.74), SUCNR1 (0.74), CCL16 (0.68), FPR3 (0.63), CCL25 (0.62), ANXA1 (0.58), PENK (0.54), GPER1 (0.53), and GPR18 (0.51).

Table 3. Candidate gene ranking by subcategory and total score (threshold = 2). Genes are listed in descending order of candidate significance rank

Gene	Expression	Localization	Pathways	Processes	Additional Points	Total
<i>CXCR3</i>	1.14	0	2.49	1.14	3	7.77
<i>CCR7</i>	1.64	0	1.17	0.96	3	6.77
<i>FPR3</i>	1.58	0	1.54	0.63	3	6.74
<i>ANXA1</i>	3.84	0	0	0.58	2	6.42
<i>GNAI2</i>	4.00	0	0	0.26	2	6.26
<i>ACKR3</i>	3.28	0	0	0.76	2	6.04
<i>CCL2</i>	2.88	0	0	1.07	2	5.95
<i>CXCL12</i>	3.01	0	0	0.91	2	5.93
<i>CXCR6</i>	1.05	0	0.75	1.03	3	5.83
<i>CCR9</i>	0.41	0	1.54	0.85	3	5.80
<i>GNAI1</i>	3.24	0	0	0.35	2	5.58
<i>GPER1</i>	2.86	0	0	0.53	2	5.39
<i>CCL19</i>	2.48	0	0	0.91	2	5.39
<i>CXCR5</i>	0.79	0	0.65	0.93	3	5.37
<i>OPRK1</i>	0	0.27	1.54	0.47	3	5.28
<i>NPY5R</i>	0.41	0	1.54	0.11	3	5.07
<i>GPR18</i>	0.96	0	0.52	0.51	3	4.99
<i>CCR10</i>	0.22	0	0.94	0.82	3	4.99
<i>GALR2</i>	0.03	0	1.54	0.23	3	4.81
<i>ADRA2A</i>	2.43	0	0	0.11	2	4.53
<i>GNA13</i>	4.00	0	0	0	0	4.00
<i>HEBP1</i>	3.96	0	0	0	0	3.96
<i>HCAR3</i>	1.43	0	0	0.27	2	3.70
<i>CXCL13</i>	0.88	0	0	0.81	2	3.69
<i>HTR5A</i>	0.07	0.44	0	0.18	3	3.68
<i>GALR3</i>	0	0	1.54	0.07	2	3.61
<i>CCL20</i>	0.84	0	0	0.76	2	3.60
<i>HTR1D</i>	0.28	0.28	0	0.04	3	3.59
<i>CXCL3</i>	0.53	0	0	1.02	2	3.55
<i>CCL8</i>	0.50	0	0	1.05	2	3.55
<i>SSTR3</i>	0	0	1.54	0.01	2	3.55
<i>NPY1R</i>	1.32	0	0	0.14	2	3.46
<i>TAS2R14</i>	1.15	0	0	0.14	2	3.29
<i>TAS2R5</i>	1.15	0	0	0.13	2	3.28
<i>SUCNR1</i>	0.49	0	0	0.74	2	3.23
<i>SST</i>	0.83	0	0	0.40	2	3.22
<i>CCL25</i>	0.44	0	0	0.62	2	3.06
<i>SSTR1</i>	0.87	0	0	0.17	2	3.04
<i>NPY</i>	0.79	0	0	0.16	2	2.95
<i>PTGDR2</i>	0.49	0	0	0.42	2	2.91
<i>PNOC</i>	0.67	0	0	0.18	2	2.85
<i>CCL27</i>	0.09	0	0	0.74	2	2.83
<i>PENK</i>	0.19	0	0	0.54	2	2.73
<i>CXCL2</i>	2.63	0	0	0	0	2.63
<i>HRH4</i>	0	0.28	0	0.28	2	2.56
<i>ADRA2C</i>	2.54	0	0	0	0	2.54
<i>OXER1</i>	2.53	0	0	0	0	2.53
<i>S1PR3</i>	2.53	0	0	0	0	2.53
<i>HTR1F</i>	0	0.28	0	0.23	2	2.50
<i>S1PR2</i>	2.48	0	0	0	0	2.48
<i>HTR1E</i>	0	0.28	0	0.11	2	2.39
<i>PDYN</i>	0.21	0	0	0.18	2	2.39
<i>OXGR1</i>	0.01	0	0	0.27	2	2.28
<i>CHRM2</i>	0.17	0	0	0.06	2	2.22
<i>TAS2R20</i>	0.07	0	0	0.14	2	2.21

Final ranking. Table 3 presents the final ranking results for identified genes with an overall score of 2 or higher.

The number of candidate genes (CG) with a score above the threshold was 55. It is worth noting separately all CGs that received more than 1 point. Although these genes do not overlap in the results of intermediate ranking stages, they may interact with several functional genes (BG) or their products on one studied parameter. In this case, they have a similar expression profile with several BGs and may be included as possible candidates for further consideration. The list of CGs with the specified threshold is: *HCAR2* (1.68), *P2RY13* (1.67), *S1PR5* (1.63), *SSTR5* (1.56), *GALR1* (1.54), *SSTR4* (1.49), and *P2RY14* (1.19).

Discussion

Viral attachment to a cell via chemokine receptors and co-receptors initiates a cascade of responses. Individual elements of this cascade can influence the course of the infectious process and/or the viral life cycle [36]. Assuming that potential CGs may directly or indirectly affect viral processes by binding to chemokine receptors/co-receptors, they and/or their products must be in close proximity to interact with the receptors and have a sufficient product concentration for such interaction, indirectly reflected in gene expression levels. These characteristics are often exhibited by participants in the same biological process and/or biological pathway. However, this does not exclude the possibility of multifunctionality of individual genes, providing more opportunities for interaction between the products of the hypothetical CG and BG products.

According to HumanNetv3, a number of CGs potentially related to chemokine co-receptors and, accordingly, to the human immunodeficiency virus, were identified. When considering the detected genes from the perspective of human molecular-biological elements associated with BGs, the belonging of these genes to the following main functional groups was shown: chemokines and their receptors, G-proteins and their associated receptors, including serpentine receptors, as well as other receptors such as taste TAS2R, neuropeptide and neurotransmitter, adrenergic, purinergic, somatostatin, peptide, and other functionally significant proteins. The identified candidates are widely expressed in various tissues, although for all BGs, an increased level of expression was observed in four main tissues/organs (lungs, terminal ileum, spleen, whole blood), where immune processes are actively occurring. The lungs contain specialized immune cells such as macrophages that ingest and destroy pathogens inhaled with air. These cells are found in the alveoli and on the surface of the airways, providing the first line of defense against infections.

In the lungs, the maturation and activity of various types of leukocytes, such as lymphocytes and neutrophils, also occur, playing a key role in fighting infections and inflammation [15].

In the terminal ileum, Peyer's patches, which are essential components of the intestinal immune system, are located. These patches contain lymphoid cells that help protect the body from pathogens ingested with food. Specialized immune cells lining the ileum protect the body from bacterial infections and maintain the mucosal barrier function [44]. The spleen, specifically the white pulp, is responsible for the production and maturation of leukocytes (lymphocytes), which produce antibodies to fight infections. The white pulp plays a key role in the adaptive immune response [40]. The involvement of blood in the body's immunity as a transport system is unquestionable. Thus, all four of these tissues are crucial sites for immune system activity. Genes with high expression levels in these tissues (*CCR7*, *GNAI3*, *GNAI2*, *HEBP1*, *OXER1*, *P2RY13*, *ANXA1*), along with background proteins, participate in immune processes, supporting the homeostasis of the immune system.

The search for intersections in the localization of gene products did not yield significant results due to the narrow localization spectrum of the products of the main BGs, which are localized in the cell membrane. The CCR2 protein, due to its expression in a large number of cells in the nervous system, has more opportunities for interaction with other host factors. Localization of genetic products in neuronal and dendritic cells is strongly associated with the progression of HIV infection, leading to neurological manifestations. Against the background of tropism switching, the virus can infect a larger number of tissues and cell groups, such as macrophages. This, in turn, leads to the infection of macrophages in the brain, which is associated with the development of neurocognitive disorders mediated by HIV.

A different pattern was observed when evaluating the participation of BGs in biological pathways and processes, which is not surprising, as receptors are an active part of signaling pathways via G-proteins and/or chemokines, as well as chemotaxis processes in response to influencing factors. The multifunctionality and the potential of individual genes and their products to influence the activity of other genes, including BGs, allow these genes to be considered as possible candidates, provided their established connection, intersection by characteristics (localization, sufficient concentration, etc.), and functional roles with BGs.

It should be noted that biological pathways refer to a series of individual reactions rather than direct interactions between proteins or their localization in one place, although such events may also occur. Primarily, joint participation in pathways indicates

a possible indirect nature of interaction. The analysis of biological pathways revealed the following. *CXCR4* and *CCR5* have strong positive correlations with *CXCR3*, *NPY5R*, and *SSTR4*, indicating their joint involvement in the same pathways. The product of the *NPY5R* gene is a neuropeptide receptor, while *SSTR4* is one of the five known somatostatin receptors and is involved in both immune [42] and neuroendocrine processes [33]. In turn, *SUCNR1* (Succinate Receptor 1), also known as *GPR91*, which has a moderate correlation with chemokine co-receptors, is a receptor activated by succinate (a metabolite of the tricarboxylic acid cycle). The *SUCNR1* protein is involved in regulating immune reactions, including macrophage polarization and inflammatory diseases such as ulcerative colitis and endometriosis [21].

Thus, without considering the likely physical interaction of CGs and their products with BGs, the probability of the association of CGs and BGs with their products was evaluated by combining four characteristics: expression, cellular localization, pathways, and biological processes. The necessary condition for such interaction, including the required sufficient concentration, and the similarity of functional roles were also considered.

Based on the combined data of the aforementioned characteristics, a scoring system was developed, which allows the identification of CGs with the hypothesized highest probability of interaction with BGs. This is important because of the known connection between BGs and HIV, suggesting that their involvement may influence the pathogenesis of the infection. For several genes, it was considered that in the case of altered homeostatic conditions, for example, during an infectious process, there would be an increase in the expression levels of certain genes in tissues where this does not normally occur.

Most of the CGs identified are chemokines of the C-C or C-X-C family, or their receptors. Since the discovery of the contribution of the chemokine co-receptors *CCR5* and *CXCR4* in the process of HIV attachment to cells, researchers have focused not only on related chemokines, specifically their suppressive action against the virus through receptor competition, but also on the receptors themselves, as alternative entry points for the virus. Among the CGs ranked in this group, the following stand out as having the highest total scores.

CCR7 receptor. This receptor helps mobilize dendritic cells and their interaction with various subsets of T cells, including naive, regulatory, and memory T cells [7]. It has also been shown to play an important role in the immune system, preventing autoimmune diseases, and is involved in immune surveillance and anti-tumor immunity [4]. Thus, the high expression of *CCR7* in the lungs, intestines, spleen, and blood may be related to its function in attracting and activating immune cells in these tissues, which is essential for effective protection against pathogens [46].

ACKR3 receptor, also known as **CXCR7**, is an important protein involved in various physiological and pathological processes and primarily functions as a scavenger receptor. The main roles of this chemokine that may be linked to the progression of HIV infection include chemokine scavenging and immune system regulation [35]. This protein also influences the distribution and function of immune cells, helps localize lymphocytes in lymphoid tissues, and modulates immune responses. There may be a lesser need for chemokine regulation through *ACKR3* in circulating blood, as its primary function is to control local inflammatory processes in tissues, with an increase in expression levels likely during inflammation [25].

CXCR6 receptor. This receptor plays a role in chemotaxis by attracting lymphocytes to sites of tissue damage, helping the body respond quickly to infection by directing immune cells to inflammation sites. *CXCR6* is also expressed on T cells, particularly natural killer cells and cytotoxic T lymphocytes, playing an important role in their migration and localization [28].

An exception in terms of low expression levels in the CXC family group is **CXCR3**. The tissue with low expression is the lungs. The functions of this gene and its products are related to the migration and activation of T cells in other tissues, such as lymph nodes and sites of inflammation. Several studies show an increase in the expression of this receptor in the lungs during inflammatory processes [43]. It has been shown that *CXCR3* is important for the migration of antigen-specific effector $CD4^+$ T cells to both the respiratory tract and lung parenchyma during the acute phase of respiratory viral infection [26].

Chemokines **CCL2**, **CXCL2**, **CXCL12**, **CCL19**, **CXCL13**, **CCL8**, **CCL25**, **CCL27**, **CCL20**, and **CXCL3** primarily function in chemotaxis, typically directing immune cells to sites of inflammation [41]. As such, they are involved in regulating immune responses and inflammatory processes [13]. Some of these chemokines are expressed in various tissues, including bone marrow, thymus, spleen, and lymph nodes [9], and play a role in maintaining the homeostasis of specific systems in the human body, such as the bone marrow [10].

The second major functional group among the ranked CGs are genes associated with G-proteins, which play a crucial role in cellular signaling and may influence viral entry and spread [20]. The G-protein subunits **GNAI1** and **GNAI2** are involved in transmitting signals from various receptors into intracellular effects. Proteins **GNA13** and **GPR18** are less studied compared to their predecessors but have been shown to participate in signal transmission via G-proteins, regulating various cellular functions, including migration and cellular survival. High expression levels of these genes may be linked to their role in multiple signaling pathways that regulate immune system functions, including chemotaxis [11, 32].

The protein **GP1B**, also known as **GPR30**, plays a significant role in various physiological and pathological processes, primarily performing protective functions such as anti-tumor and anti-inflammatory effects [34]. It is difficult to pinpoint the exact reasons for its low expression in whole blood, as most studies focus on its specific influences on particular processes.

Two other genes with low expression in whole blood are *S1PR5* and *S1PR3*. Among the five known GPCRs with high affinity for S1P (sphingosine-1-phosphate, a signaling lipid), types 1, 2, and 3 are predominantly expressed in cardiovascular tissues. **S1PR2** and **S1PR3** are involved in regulating cell migration and vascular tone, which explains their low expression in blood, although expression levels increase during inflammation [38].

Additionally, the protein **S1PR5** is present in the analyzed group, but with low expression in the small intestine. Unlike **S1PR2** and **S1PR3**, **S1PR5** is characteristic of the immune and nervous systems [8]. It is expressed in whole blood, but its low expression in the small intestine may be explained by its more significant functions in the central nervous system and other tissues.

Among the group associated with G-proteins, special attention should be given to the receptors involved in two signaling pathways (OXER1, HCAR2/3). The **OXER1** protein is a receptor for oxo-eicosanoids, which are involved in inflammatory and immune responses. High expression in tissues may be related to their role in regulating these processes. For example, in the lungs and intestines, **OXER1** helps protect against infections and inflammation, while in the spleen and blood, it plays a role in immune cell mobilization and function [12].

The **HCAR2** and **HCAR3** proteins are associated with inflammatory conditions, such as Crohn's disease and ulcerative colitis, where they participate in recruiting innate immune cells and differentiating Th-17 cells, respectively [39]. They exhibit low expression in the small intestine. However, their functions may be more significant in other tissues, such as the skin and brain, where they regulate inflammatory processes and energy metabolism.

The third group includes chemokines that do not share a common functional role or belong to the same protein family. The protein annexin A1 (**ANXA1**) plays an important role in regulating inflammation and immune responses. High expression of *ANXA1* in various tissues may be associated with its function in suppressing inflammatory processes and tissue repair. This is especially important in the lungs and intestines, which are frequently exposed to external agents [2]. *ANXA1* ranks fourth in terms of significance due to its high expression profile matching the background genes, as well as its involvement in similar biological processes. However, its mechanism of interaction with

background chemokine receptors requires clarification to understand its potential impact on HIV attachment and/or the development of infectious processes.

The protein **HEBP1**, in this case, is an exception to the other genes presented. It is involved in heme metabolism and may play a role in regulating cell growth and survival. High expression of *HEBP1* in these tissues may be associated with the need to regulate heme levels and prevent its toxic effects, especially in tissues with high metabolic activity and frequent inflammatory processes [45].

The receptor **FPR3** is expressed in monocytes and dendritic cells, but not in neutrophils. It is located in intracellular vesicles rather than on the cell surface, unlike other FPR group receptors [24]. This group of receptors is involved in chemotaxis and immune cell activation, but FPR3 is less studied compared to others, making it difficult to explain the reason for its expression level in the blood.

The receptors **ADRA2A** and **ADRA2C** regulate vascular tone and the sympathetic nervous system [1], which is less significant for circulating blood cells compared to other background tissues [27].

Receptors **TAS2R5**, **TAS2R14**, **TAS2R46**, **TAS2R4**, and **TAS2R20** are involved in taste perception and possibly in modulating inflammatory responses [30]. The functional roles of this group of receptors, aside from their role in sensory taste perception, are poorly studied, and it is currently difficult to explain the expression levels of these genes.

It is noteworthy that for most of the chemokine genes presented, low expression levels were found in tissues where their expression increases during an immune response to inflammation or infection. In the context of HIV infection, where immune response activation is observed, the interaction between these genes becomes more likely, and their potential interactions with each other may influence the infectious process. However, if interaction occurs only during the immune response, established interactions between the background genes (BGs) and CGs may be absent, or if they do occur, they may be random.

In conclusion, analysis of the expression and localization of CGs, as well as their potential participation in various immune processes and biological pathways, identified promising CGs that may play a role in the pathogenesis of HIV infection. A limitation of our study is the indirect nature of the link between the identified CGs and the course of HIV infection. The results of this study confirm the need for further investigation into the functional roles and interactions of CGs in the pathogenesis of HIV infection. This will deepen the understanding of the molecular mechanisms underlying the disease and lead to the development of new therapeutic strategies.

Conclusion

In the course of the study, candidate genes potentially associated with chemokine coreceptors and, consequently, with viral attachment to the cell, were analyzed. These genes may play a key role in regulating immune responses and maintaining homeostasis in the body, especially in important organs such as the lungs, intestines, spleen, and blood. Some of the identified genes are involved in the regulation of inflammatory processes, immune cell migration, and the maintenance of barrier functions in various tissues. The potential link between genes associated with neurotransmitters and neuropeptides and the pathogenesis of HIV infection deserves special attention.

The detected correlations suggest the probable involvement of many of the identified candidate genes in complex signaling pathways that regulate immune responses and inflammation. The presence of positive correlations between chemokine receptors and other proteins may indicate the complex interaction of immune and neuronal processes in the context of HIV infection. The results of the analysis emphasize the importance of further studying the genetic and molecular mechanisms influencing the course of HIV infection.

Additional information

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

References

1. Aantaa R., Marjamäki A., Scheinin M. Molecular pharmacology of alpha 2-adrenoceptor subtypes. *Ann. Med.*, 1995, vol. 27, no. 4, pp. 439–449. doi: 10.3109/07853899709002452
2. Al-Ali H.N., Crichton S.J., Fabian C., Pepper C., Butcher D.R., Dempsey F.C., Parris C.N. A therapeutic antibody targeting annexin-A1 inhibits cancer cell growth in vitro and in vivo. *Oncogene*, 2024, vol. 43, no. 8, pp. 608–614. doi: 10.1038/s41388-023-02919-9
3. Alkhatib G., Berger E.A. HIV coreceptors: from discovery and designation to new paradigms and promise. *Eur. J. Med. Res.*, 2007, vol. 12, no. 9, pp. 375–384.
4. Alrumaihi F. The multi-functional roles of CCR7 in human immunology and as a promising therapeutic target for cancer therapeutics. *Front. Mol. Biosci.*, 2022, vol. 9: 834149. doi: 10.3389/fmolb.2022.834149
5. Apryatina S.A., Rakhmanaliev E.R., Nikolaeva I.A., Ruban S.V., Vazykhova F.G., Klimov E.A., Sulimova G.E., Sidorovich I.G. Comparison of CCR5del32 mutation in the CCR5 gene frequencies in russians, tuvinians, and in groups of HIV-infected individuals. *Russian Journal of Genetics*, 2005, vol. 41, pp. 1287–1290. doi: 10.1007/s11177-005-0230-6
6. Aseev M.V., Shawi A., Baranov V.S., Dean M. Population frequencies of the CKR5 mutant allele of the chemokine receptor gene responsible for HIV infection. *Russian Journal of Genetics*, 1997, vol. 33, no. 12, pp. 1475–1477.
7. Brandum E.P., Jørgensen A.S., Rosenkilde M.M., Hjortø G.M. Dendritic cells and CCR7 expression: an important factor for autoimmune diseases, chronic inflammation, and cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 8340. doi: 10.3390/ijms22158340
8. Cannavo A., Liccardo D., Komici K., Corbi G., de Lucia C., Femminella G.D., Elia A., Bencivenga L., Ferrara N., Koch W.J., Paolucci N., Rengo G. Sphingosine kinases and sphingosine 1-phosphate receptors: signaling and actions in the cardiovascular system. *Front. Pharmacol.*, 2017, vol. 8: 556. doi: 10.3389/fphar.2017.00556
9. Clark-Lewis I., Kim K.S., Rajarathnam K., Gong J.H., Dewald B., Moser B., Baggiolini M., Sykes B.D. Structure-activity relationships of chemokines. *J. Leukoc. Biol.*, 1995, vol. 57, no. 5, pp. 703–711. doi: 10.1002/jlb.57.5.703
10. Collins P.J., McCully M.L., Martínez-Muñoz L., Santiago C., Wheelton J., Caucheteux S., Thelen S., Cecchinato V., Laufer J.M., Purvanov V., Monneau Y.R., Lortat-Jacob H., Legler D.F., Ugucioni M., Thelen M., Piguat V., Mellado M., Moser B. Epithelial chemokine CXCL14 synergizes with CXCL12 via allosteric modulation of CXCR4. *FASEB J.*, 2017, vol. 31, no. 7, pp. 3084–3097. doi: 10.1096/fj.201700013R
11. Console-Bram L., Brailoiu E., Brailoiu G.C., Sharir H., Abood M.E. GPR18 and intracellular calcium, MAPK, β -arrestin. *Br. J. Pharmacol.*, 2014, vol. 171, pp. 3908–3917. doi: 10.1111/bph.12746
12. Dattilo M., Neuman I., Muñoz M., Maloberti P., Cornejo Maciel F. OxeR1 regulates angiotensin II and cAMP-stimulated steroid production in human H295R adrenocortical cells. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2015, vol. 408, pp. 38–44. doi: 10.1016/j.mce.2015.01.040
13. Feniger-Barish R., Belkin D., Zaslaver A., Gal S., Dori M., Ran M., Ben-Baruch A. GCP-2-induced internalization of IL-8 receptors: hierarchical relationships between GCP-2 and other ELR(+)-CXC chemokines and mechanisms regulating CXCR2 internalization and recycling. *Blood*, 2000, vol. 95, no. 5, pp. 1551–1559. doi: 10.1182/blood.V95.5.1551.005a36_1551_1559
14. Frade J.M., Llorente M., Mellado M., Alcamí J., Gutiérrez-Ramos J.C., Zaballos A., Real G., Martínez-A C. The amino-terminal domain of the CCR2 chemokine receptor acts as coreceptor for HIV-1 infection. *J. Clin. Invest.*, 1997, vol. 100, no. 3, pp. 497–502. doi: 10.1172/JCI119558
15. Gordon S.B., Read R.C. Macrophage defences against respiratory tract infections. *Br. Med. Bull.*, 2002, vol. 61, pp. 45–61. doi: 10.1093/bmb/61.1.45
16. Global HIV & AIDS statistics — Fact sheet / UNAIDS 2023 epidemiological estimates. URL: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet> (08.05.2024)
17. Hernandez P.A., Gorlin R.J., Lukens J.N., Taniuchi S., Bohinjec J., Francois F., Klotman M.E., Diaz G.A. Mutations in the chemokine receptor gene CXCR4 are associated with WHIM syndrome, a combined immunodeficiency disease. *Nature Genetics*, 2003, vol. 34, no. 1, pp. 70–74. doi: 10.1038/ng1149
18. Ito Y., Grivel J.C., Chen S., Kiselyeva Y., Reichelderfer P., Margolis L. CXCR4-tropic HIV-1 suppresses replication of CCR5-tropic HIV-1 in human lymphoid tissue by selective induction of CC-chemokines. *J. Infect. Dis.*, 2004, vol. 189, no. 3, pp. 506–514. doi: 10.1086/381153

19. Ivanov S., Lagunin A., Filimonov D., Tarasova O. Network-based analysis of OMICs data to understand the HIV-host interaction. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 11: 1314. doi: 10.3389/fmicb.2020.01314
20. Juno J.A., Fowke K.R. Clarifying the role of G protein signaling in HIV infection: new approaches to an old question. *AIDS Rev.*, 2010, vol. 12, no. 3, pp. 164–176.
21. Keiran N., Ceperuelo-Mallafre V., Calvo E., Hernández-Alvarez M.I., Ejarque M., Núñez-Roa C., Horrillo D., Maymó-Masip E., Rodríguez M.M., Fradera R., de la Rosa J.V., Jorba R., Megia A., Zorzano A., Medina-Gómez G., Serena C., Castrillo A., Vendrell J., Fernández-Veledo S. SUCNR1 controls an anti-inflammatory program in macrophages to regulate the metabolic response to obesity. *Nat. Immunol.*, 2019, vol. 20, no. 5, pp. 581–592. doi: 10.1038/s41590-019-0372-7
22. Kiertiburanakul S., Sungkanuparph S. Emerging of HIV drug resistance: epidemiology, diagnosis, treatment and prevention. *Curr. HIV Res.*, 2009, vol. 7, no. 3, pp. 273–278. doi: 10.2174/157016209788347976
23. Kim C.Y., Baek S., Cha J., Yang S., Kim E., Marcotte E.M., Hart T., Lee I. HumanNet v3: an improved database of human gene networks for disease research. *Nucleic Acids Res.*, 2022, vol. 50, no. D1, pp. D632–D639. doi: 10.1093/nar/gkab1048
24. Kim S.D., Kim J.M., Jo S.H., Lee H.Y., Lee S.Y., Shim J.W., Seo S.K., Yun J., Bae Y.S. Functional expression of formyl peptide receptor family in human NK cells. *J. Immunol.*, 2009, vol. 183, no. 9, pp. 5511–5517. doi: 10.4049/jimmunol.0802986
25. Koenen J., Bachelier F., Balabanian K., Schlecht-Louf G., Gallego C. Atypical chemokine receptor 3 (ACKR3): a comprehensive overview of its expression and potential roles in the immune system. *Mol. Pharmacol.*, 2019, vol. 96, no. 6, pp. 809–818. doi: 10.1124/mol.118.115329
26. Kohlmeier J.E., Cookenham T., Miller S.C., Roberts A.D., Christensen J.P., Thomsen A.R., Woodland D.L. CXCR3 directs antigen-specific effector CD4⁺ T cell migration to the lung during parainfluenza virus infection. *J. Immunol.*, 2009, vol. 183, no. 7, pp. 4378–4384. doi: 10.4049/jimmunol.0902022
27. Kurnik D., Muszkat M., Friedman E.A., Sofowora G.G., Diedrich A., Xie H.G., Harris P.A., Choi L., Wood A.J., Stein C.M. Effect of the alpha2C-adrenoreceptor deletion322-325 variant on sympathetic activity and cardiovascular measures in healthy subjects. *J. Hypertens.*, 2007, vol. 25, no. 4, pp. 763–771. doi: 10.1097/HJH.0b013e328017f6e9
28. Mabrouk N., Tran T., Sam I., Pourmir I., Gruel N., Granier C., Pineau J., Gey A., Kobold S., Fabre E., Tartour E. CXCR6 expressing T cells: functions and role in the control of tumors. *Front. Immunol.*, 2022, vol. 13: 1022136. doi: 10.3389/fimmu.2022.1022136
29. Mabuka J.M., Mackelprang R.D., Lohman-Payne B., Majiwa M., Bosire R., John-Stewart G., Rowland-Jones S., Overbaugh J., Farquhar C. CCR2-641 polymorphism is associated with lower maternal HIV-1 viral load and reduced vertical HIV-1 transmission. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, 2009, vol. 51, no. 2, pp. 235–237. doi: 10.1097/QAI.0b013e31819c155b
30. Martens K., Steelant B., Bullens D.M.A. Taste receptors: the gatekeepers of the airway epithelium. *Cells*, 2021, vol. 10, no. 11: 2889. doi: 10.3390/cells10112889
31. McMyn N.F., Varriale J., Fray E.J., Zitzmann C., MacLeod H., Lai J., Singhal A., Moskovljevic M., Garcia M.A., Lopez B.M., Hariharan V., Rhodehouse K., Lynn K., Tebas P., Mounzer K., Montaner L.J., Benko E., Kovacs C., Hoh R., Simonetti F.R., Laird G.M., Deeks S.G., Ribeiro R.M., Perelson A.S., Siliciano R.F., Siliciano J.M. The latent reservoir of inducible, infectious HIV-1 does not decrease despite decades of antiretroviral therapy. *J. Clin. Invest.*, 2023, vol. 133, no. 17: e171554. doi: 10.1172/JCI171554
32. Na J., Zhou W., Yin M., Hu Y., Ma X. GNA13 promotes the proliferation and migration of lung squamous cell carcinoma cells through regulating the PI3K/AKT signaling pathway. *Tissue Cell*, 2022, vol. 76: 101795. doi: 10.1016/j.tice.2022.101795
33. Nemes B., Böleskei K., Kecskés A., Kormos V., Gaszner B., Aczél T., Hegedüs D., Pintér E., Helyes Z., Sándor Z. Human somatostatin SST4 receptor transgenic mice: construction and brain expression pattern characterization. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 7: 3758. doi: 10.3390/ijms22073758
34. Ruckriegel S., Loris J., Wert K., Bauerschmitz G., Gallwas J., Gründker C. Knockdown of G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER1) enhances tumor-supportive properties in cervical carcinoma cells. *Cancer Genomics Proteomics*, 2023, vol. 20, no. 3, pp. 281–297. doi: 10.21873/cgp.20381
35. Schafer C.T., Chen Q., Tesmer J.J.G., Handel T.M. Atypical chemokine receptor 3 “senses” CXC chemokine receptor 4 activation through GPCR kinase phosphorylation. *Mol. Pharmacol.*, 2023, vol. 104, no. 4, pp. 174–186. doi: 10.1124/molpharm.123.000710
36. Schemelev A.N., Davydenko V.S., Ostankova Y.V., Reingard D.E., Serikova E.N., Zueva E.B., Totolian A.A. Involvement of human cellular proteins and structures in realization of the HIV life cycle: a comprehensive review. *Viruses*, 2024, vol. 16, no. 11: 1682. doi: 10.3390/v16111682
37. Shchemelev A.N., Ostankova Y.V., Zueva E.B., Semenov A.V., Totolian A.A. Detection of patient HIV-1 drug resistance mutations in Russia’s Northwestern Federal District in patients with treatment failure. *Diagnostics (Basel)*, 2022, vol. 12, no. 8: 1821. doi: 10.3390/diagnostics12081821
38. Shimizu T., De Wispelaere A., Winkler M., D’Souza T., Caylor J., Chen L., Dastvan F., Deou J., Cho A., Larena-Avellaneda A., Reidy M., Daum G. Sphingosine-1-phosphate receptor 3 promotes neointimal hyperplasia in mouse iliac-femoral arteries. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2012, vol. 32, no. 4, pp. 955–961. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.241034
39. Spathakis M., Dovrolis N., Filidou E., Kandilogiannakis L., Tarapatzi G., Valatas V., Drygiannakis I., Paspaliaris V., Arvanitidis K., Manolopoulos V.G., Kolios G., Vradelis S. Exploring microbial metabolite receptors in inflammatory bowel disease: an in silico analysis of their potential role in inflammation and fibrosis. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2024, vol. 17, no. 492. doi: 10.3390/ph17040492
40. Steiniger B., Barth P., Hellinger A. The perifollicular and marginal zones of the human splenic white pulp: do fibroblasts guide lymphocyte immigration? *Am. J. Pathol.*, 2001, vol. 159, no. 2, pp. 501–512. doi: 10.1016/S0002-9440(10)61722-1
41. Tsou C.L., Peters W., Si Y., Slaymaker S., Aslanian A.M., Weisberg S.P., Mack M., Charo I.F. Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites. *J. Clin. Invest.*, 2007, vol. 117, no. 4, pp. 902–909. doi: 10.1172/JCI29919
42. Van Op den Bosch J., Torfs P., De Winter B.Y., De Man J.G., Pelckmans P.A., Van Marck E., Grundy D., Van Nassauw L., Timmermans J.P. Effect of genetic SSTR4 ablation on inflammatory peptide and receptor expression in the non-inflamed and inflamed murine intestine. *J. Cell. Mol. Med.*, 2009, vol. 13, no. 9B, pp. 3283–3295. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00760.x

43. Wareing M.D., Lyon A.B., Lu B., Gerard C., Sarawar S.R. Chemokine expression during the development and resolution of a pulmonary leukocyte response to influenza A virus infection in mice. *J. Leukoc. Biol.*, 2004, vol. 76, no. 4, pp. 886–895. doi: 10.1189/jlb.1203644
44. Xu Z., Gong L., Peng P., Liu Y., Xue C., Cao Y. Porcine enteric alphacoronavirus inhibits IFN- α , IFN- β , OAS, Mx1, and PKR mRNA expression in infected Peyer's patches in vivo. *Front. Vet. Sci.*, 2020, vol. 7: 449. doi: 10.3389/fvets.2020.00449
45. Yagensky O., Kohansal-Nodehi M., Gunaseelan S., Rabe T., Zafar S., Zerr I., Härtig W., Urlaub H., Chua J.J. Increased expression of heme-binding protein 1 early in Alzheimer's disease is linked to neurotoxicity. *Elife*, 2019, vol. 8: e47498. doi: 10.7554/eLife.47498
46. Yan Y., Chen R., Wang X., Hu K., Huang L., Lu M., Hu Q. CCL19 and CCR7 expression, signaling pathways, and adjuvant functions in viral infection and prevention. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2019, vol. 7: 212. doi: 10.3389/fcell.2019.00212

Авторы:

Давыденко В.С., младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции, аспирант ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Останкова Ю.В., к.б.н., зав. лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Щемелев А.Н., младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Ануфриева Е.В., младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Кушнарева В.В., лаборант-исследователь лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Тотolian А.А., академик РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой иммунологии Первого Санкт-Петербургского медицинского университета имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Davydenko V.S., Junior Researcher, Laboratory of Immunology and Virology of HIV Infection, PhD Student, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Ostankova Yu.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Immunology and Virology HIV-Infection; Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Schemelev A.N., Junior Researcher, Laboratory of Immunology and Virology of HIV Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Anufrieva E.V., Junior Researcher, Laboratory of Immunology and Virology of HIV Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Kushnareva V.V., Research Laboratory Assistant, Laboratory of Immunology and Virology of HIV Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Totolian A.A., RAS Full Member, DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, Director of St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

ЗНАЧЕНИЕ ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ПРИБЫВШИМИ ИЗ НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ ПО ПОЛИОМИЕЛИТУ ТЕРРИТОРИЙ ДЛЯ КОНТРОЛЯ СИТУАЦИИ С ЭТОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

О.И. Канаева¹, Н.И. Романенкова¹, В.А. Евсева¹, Н.А. Толстых¹, Т.Н. Погребная², М.А. Блохинова¹, К.А. Антоненков¹

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

² ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Калининградской области, г. Калининград, Россия

Резюме. Проведен анализ результатов вирусологического исследования материала от здоровых детей, прибывших в Российскую Федерацию из неблагополучных по полиомиелиту территорий. Проведен анализ напряженности иммунитета к полиовирусам у детей, прибывших в РФ, и у детей, постоянно проживающих на территории Российской Федерации. За десятилетний период (2014–2023 гг.) в Субнациональной лаборатории ВОЗ в Санкт-Петербурге было исследовано более 3300 проб. Большинство обследованных прибыло в субъекты Российской Федерации из Республик Таджикистан (56,5%), Узбекистан (6,2%) и из Украины (5,8%). Также были обследованы дети, приехавшие из Северо-Кавказского федерального округа, которые составили 22,2% от всех обследованных. При вирусологическом исследовании от 55 детей было выделено 65 полиовирусов (ПВ). Большинство полиовирусов были отнесены к типам 1 и 3, шесть штаммов отнесены к типу 2. Все полиовирусы по результатам внутритиповой дифференциации являлись вакцинными, в том числе полиовирусы типа 2. Один штамм ПВ2 был выделен от ребенка из Киргизии в 2014 г. и пять штаммов ПВ2 — из новой оральной полиовирусной вакцины (НОПВ2) от детей из Республики Таджикистан в 2021 г., когда вакцину НОПВ2 использовали для купирования циркуляции полиовирусов вакцинного происхождения типа 2 в этой стране. Анализ вакцинального статуса детей, приехавших из неблагополучных по полиомиелиту стран и территорий, выявил проблемы с иммунизацией в местах их постоянного проживания. Более трети обследованных не имели сведений о прививках, около 9% детей не были привиты по разным причинам, в том числе в связи с медицинскими отводами и отказами родителей от прививок, 12% детей были привиты не полностью. Сравнительный анализ эффективности вакцинации против полиомиелита детей — резидентов субъекта РФ и детей, прибывших из Республики Таджикистан, свидетельствует о недостатках системы иммунизации в этой стране. Многие обследованные не имели антител к полиовирусам разных типов, а у 11–12% детей не было антител к полиовирусам всех трех или двух типов, включенных в вакцины (согласно схемам вакцинации 2006–2010 или 2014–2020 гг.). Полученные данные подтверждают важное значение и необходимость эпидемиологического и вирусологического надзора за детьми, прибывшими из неблагополучных по полиомиелиту территорий, в системе контроля ситуации по полиомиелиту в Российской Федерации.

Ключевые слова: полиомиелит, вирусологический надзор, полиовирусы, вакцинация, иммунитет.

Адрес для переписки:

Канаева Ольга Ильинична
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 644-63-47. Факс: 8 (812) 644-63-10.
E-mail: kanaeva@pasteurorg.ru

Contacts:

Olga I. Kanaeva
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 644-63-47. Fax: +7 (812) 644-63-10.
E-mail: kanaeva@pasteurorg.ru

Для цитирования:

Канаева О.И., Романенкова Н.И., Евсева В.А., Толстых Н.А., Погребная Т.Н., Блохинова М.А., Антоненков К.А. Значение вирусологического надзора за прибывшими из неблагополучных по полиомиелиту территорий для контроля ситуации с этой инфекцией в Российской Федерации // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1169–1178. doi: 10.15789/2220-7619-IOV-17706

Citation:

Kanaeva O.I., Romanenkova N.I., Evseeva V.A., Tolstykh N.A., Pogrebnaya T.N., Blokhinova M.A., Antonenkov K.A. Importance of virological surveillance after migrants from polio high-risk territories for poliomyelitis monitoring in the Russian Federation // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1169–1178. doi: 10.15789/2220-7619-IOV-17706

IMPORTANCE OF VIROLOGICAL SURVEILLANCE AFTER MIGRANTS FROM POLIO HIGH-RISK TERRITORIES FOR POLIOMYELITIS MONITORING IN THE RUSSIAN FEDERATION

Kanaeva O.I.^a, Romanenkova N.I.^a, Evseeva V.A.^a, Tolstykh N.A.^a, Pogrebnaya T.N.^b, Blokhinova M.A.^a, Antonenkov K.A.^a

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

^b Center of Hygiene And Epidemiology in Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract. The results of virologically examined biological material collected from children and poliovirus-specific immunity arrived in the Russian Federation from polio high risk territories were analyzed. Over a ten-year period (2014–2023), more than 3.300 samples were examined at the Subnational WHO Laboratory in St. Petersburg. Most of the examined children arrived in different regions of the Russian Federation from the Republics of Tajikistan (56.5%) or Uzbekistan (6.2%) and from Ukraine (5.8%). Children who arrived from the North Caucasus were also examined comprising 22.2% examined cases. Polioviruses (65 PV) were isolated from 55 children during virological study. Most isolated strains were classified as types 1 and 3 polioviruses, with six strains classified as type 2. Only vaccine polioviruses were found, including type 2 polioviruses according to the ITD results. One PV2 strain was isolated from a child from Kyrgyzstan in 2014, and five PV2 strains from the new nOPV2 vaccine were isolated from Tajik children in 2021 after using nOPV2 vaccine to suppress cVDPV2 circulation in Tajikistan. Analysis of vaccination status in children arrived from high polio risk territories revealed problems poor immunization coverage in relevant place of residence. More than a third of children had no vaccination records, about 9% children had no polio vaccination for various reasons including medical exemptions and refusals of parents to vaccinate, another 12% were vaccinated incompletely. A comparatively analyzed effectiveness of polio vaccination for children resident in the Russian Federation and those who arrived from Tajikistan also evidenced poor polio immunization coverage in the latter. Many children from Tajikistan had no antibodies specific to polioviruses of different types, and 11–12% of children did not have antibodies to all three or two vaccine poliovirus types (according to the 2006–2010 or 2014–2020 vaccination schedules). The data obtained confirm the importance and need for epidemiological and virological surveillance for residents arrived from polio high risk territories in Russia within poliomyelitis control programme in the Russian Federation.

Key words: poliomyelitis, virological surveillance, polioviruses, vaccination, immunity.

Введение

Несмотря на колоссальный успех Глобальной программы ликвидации полиомиелита, инфекция по-прежнему остается актуальной для здравоохранения всех стран. Коллективными усилиями к настоящему времени удалось достичь радикального снижения количества случаев полиомиелита, вызванных «дикими» полиовирусами (ДПВ). На отсутствие циркуляции ДПВ сертифицированы 5 регионов мира из шести. Не сертифицирован только Восточно-Средиземноморский регион, где с 2018 г. остаются эндемичными всего две страны: Афганистан и Пакистан [21]. Глобальное сотрудничество позволило сократить число случаев полиомиелита, вызванного «дикими» полиовирусами, с 350 000 случаев в мире в год принятия Глобальной программы ликвидации полиомиелита (1988 г.) до 12 случаев в 2023 г. только в Афганистане и Пакистане. Тем не менее из других источников (образцы сточной воды, контактные и лица без признаков заболевания) в 2023 г. было выделено 146 штаммов ДПВ1, что говорит о непрекращающейся циркуляции этого вируса в эндемичных странах.

С 2021 г. в Пакистане проводилась масштабная кампания по вакцинации с охватом более 160 000 детей. Она стала самой удачной в стране за все время борьбы с полиомиелитом. Но из-за

политической нестабильности, проблем с безопасностью и отказов пускать вакцинаторов в дома многие дети остаются не привитыми от полиомиелита. Кампании по вакцинации ведутся и в Афганистане, однако в южных районах страны остается около 200 тыс. детей, недоступных для вакцинаторов. Данная популяция в сочетании с активными миграционными потоками между Афганистаном и Пакистаном представляют угрозу дальнейшего распространения «дикого» полиовируса [19].

Вызовом для Программы стали вспышки полиомиелита, вызванные циркулирующими полиовирусами вакцинного происхождения (цПВВП) [15]. За последние шесть лет эти полиовирусы (ПВ) вызвали больше случаев паралитического полиомиелита, чем ДПВ: по данным ВОЗ, с 2017 по 2023 гг. подтверждено 419 случаев, вызванных ДПВ1, тогда как цПВВП только в 2023 г. вызвали 524 случая в 32 странах [21]. Изъятие из оральной полиовирусной вакцины (ОПВ) штамма Сэбина типа 2 в 2016 г. с целью снижения циркуляции полиовирусов, ставших нейровирулентными в процессе трансмиссии в популяции с плохим охватом вакцинацией [14], не дало ожидаемых результатов. Напротив, количество случаев полиомиелита, вызванного цПВВП2, кратно возросло. Было показано, что скорость нуклеотидных (nt) замен для штаммов ПВВП2 составляет $1,14 \times 10^{-2}$ nt в год, примерно

одна замена в 35 дней [10]. Применение моновалентной оральной полиовирусной вакцины (МОПВ) типа 2 в ходе кампаний по вакцинации в Африке в 2016–2019 гг. привело к возникновению 27 вспышек полиомиелита из 41, вызванных цПВВП2 [14]. Поэтому штамм для новой оральной полиовирусной вакцины (НОПВ) был модифицирован так, чтобы свести к минимуму генетическую изменчивость в процессе репликации в организме [20].

Впервые НОПВ2 применили в Нигерии в 2021 г. для борьбы со случаями полиомиелита, вызванного цПВВП2. Клинико-эпидемиологический анализ показал, что эффективность НОПВ2 и МОПВ одинакова, но эффективность инактивированной полиовирусной вакцины (ИПВ) выше чем обеих моновакцин [12]. Несмотря на высокую эффективность НОПВ2 в клинических испытаниях, ее применение в странах с плохой экономической ситуацией не столь успешно. Причинами этого могут быть воспаления ЖКТ у реципиентов оральной вакцины и распространение неполиомиелитных энтеровирусов, а также других возбудителей кишечных инфекций [16] в этих странах. Поскольку НОПВ2 обладает большей генетической стабильностью чем МОПВ2, именно она является вакциной выбора в очагах полиомиелита, вызванного цПВВП2.

Есть случаи импортирования ПВВП в соседние с Российской Федерацией страны с низким охватом иммунизации против полиомиелита. В 2020 г. в Таджикистане началась вспышка полиомиелита, вызванная цПВВП2. В 2020–2021 гг. в этой стране было зарегистрировано 34 случая паралитических заболеваний. Вирус цПВВП2 был выделен и из проб сточной воды и у контактных лиц без симптомов заболевания [18]. Для прерывания вспышки в стране были проведены Национальные дни иммунизации с охватом детей до 6 лет в три раунда с НОПВ2. В Российской Федерации были приняты противоэпидемические меры: вступил в действие специальный алгоритм обследования детей, прибывших из Таджикистана. Обследованию подлежали все прибывшие из Таджикистана дети до 5 лет без учета даты прибытия на территорию Российской Федерации. В результате реализации этого алгоритма штаммы ПВ типа 2 были выявлены у 106 здоровых детей (2 штамма ПВВП2, 104 штамма НОПВ2) [8].

Аналогичная ситуация зафиксирована в Украине, где в 2021 г. произошла вспышка полиомиелита, вызванная цПВВП типа 2. Этот полиовирус изначально сформированный в Пакистане, затем был выявлен в Таджикистане. В 2021 г. цПВВП2 вызвал паралитический полиомиелит у двух украинских детей и был обнаружен у 19 контактных лиц.

Кампания по подчищающей иммунизации детей от 6 месяцев до 6 лет и усиление надзора за полиомиелитом купировали эту ситуацию. После декабря 2021 г. ПВВП2 не были детектированы в стране, и в сентябре 2023 г. ВОЗ официально объявила об окончании вспышки полиомиелита в Украине. В связи с увеличением потока переселенцев из Украины в субъекты РФ был усилен контроль за прибывающими в Россию детьми.

Важно, что в разных субъектах РФ по-разному складывается эпидемическая ситуация с инфекциями, в том числе с полиомиелитом. В Северокавказском федеральном округе (СКФО) эпидемическая ситуация по полиомиелиту осложнена, поэтому прибывающие из СКФО здоровые дети также подлежат обследованию на полиовирусы.

Российская сеть полиомиелитных лабораторий, которая входит в Глобальную лабораторную сеть ВОЗ по диагностике полиомиелита, осуществляет контроль циркуляции полиовирусов среди населения — в том числе вирусологический надзор за детьми, прибывшими в РФ из неблагополучных по полиомиелиту территорий [3, 4]. Региональный центр эпидемиологического надзора за полиомиелитом и ОВП (СПб РЦ) работает с 1998 г. Он курирует 14 субъектов РФ (11 территорий Северо-Западного федерального округа и 3 территории Центрального и Приволжского округов).

Материалы и методы

В СПб РЦ исследуются пробы фекалий от здоровых детей в возрасте до 5 лет из семей мигрантов, кочующих групп населения, прибывших из эндемичных или неблагополучных по полиомиелиту стран и территорий [7]. За десятилетний период (2014–2023 гг.) было исследовано 3333 пробы.

Для обработки фекального материала и выделения полиовирусов согласно рекомендациям ВОЗ [6] использовали сертифицированные перевиваемые культуры клеток человека RD, HEp-2 и линию L20V из L-клеток мыши с векторным геном, обеспечивающим экспрессию специфического рецептора к полиовирусу. Для культивирования клеток использовали растворы, питательные среды (ПанЭко, Россия) и инактивированную фетальную сыворотку (Thermo Fisher Scientific, Бразилия). При цитопатогенном эффекте на культуре L20V полиовирус идентифицировали в реакции нейтрализации со специфическими диагностическими сыворотками (ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Россия).

В 2021–2022 гг. для определения наличия вирусспецифической РНК для части проб параллельно применяли метод ОТ-ПЦР в режиме ре-

ального времени с использованием диагностической тест-системы «АмплиСенс® Enterovirus-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) согласно инструкции производителя. Для выделения вирусной РНК использовался набор «РИБО-Преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Для определения принадлежности полиовируса к вакцинному штамму методом внутритиповой дифференциации (ВТД) [13] изолят направляли в Национальную лабораторию.

Результаты

Выделение полиовирусов от детей, прибывших из неблагополучных по полиомиелиту регионов

На территории регионального центра преимущественно приезжают дети трудовых мигрантов из стран СНГ. Среди детей, подлежащих обследованию, больше всего было детей из Республики Таджикистан (56,5%). Также обследованы дети из Республики Узбекистан (6,2%), Украины (5,8%) и другие дети (табл. 1). Среди обследованных 63 ребенка прибыли не из стран — участников СНГ или у них в направлении не была указана страна прибытия. Также были обследованы дети — резиденты СКФО, которые составили 22,2% от всех обследованных.

В результате вирусологического исследования было выделено 55 полиовирусов (табл. 2), что составило 1,7% от общего количества проб. Более всего было выделено полиовирусов типов 1 и 3, менее всего — ПВ типа 2. Все полиовирусы по результатам ВТД относились к вакцинным штаммам, в том числе штаммы ПВ типа 2.

В 2014–2020 гг. полиовирусы были выделены в единичных случаях. Обследовались преимущественно дети, родители которых обращались в медицинские учреждения за оказанием помощи, либо для получения справки о возможности посещать детские коллективы. В 2021 г. из 1176 проб 1018 проб (86,6%) получено от детей из Таджикистана, из которых выделено 15 полиовирусов. Один изолят полиовируса был выделен от ребенка из Дагестана. В 2022 г. в лаборатории СПб РЦ было исследовано 890 проб от здоровых детей, в которых было обнаружено 28 (3,0%) полиовирусов. От детей, прибывших из Украины, ЛНР, ДНР было выделено 22 полиовируса. Еще 9 полиовирусов было выделено от детей из Республики Таджикистан. Полиовирусы с эпидемическим потенциалом («дикие», ПВВП) выделены не были.

Пропорция полиовирусов разных типов среди вирусов, выделенных от детей из СКФО, Таджикистана, Украины, а также других стран СНГ представлена на рисунке. В отношении к количеству исследованных проб полиовирусы чаще выделялись от детей из Украины (9,4%) и Таджикистана (1,5%). Только от прибывших из Таджикистана выделяли полиовирусы всех трех типов. ПВ типа 2 был также выделен от ребенка из Киргизии (2014 г.) до прекращения вакцинация трехвалентной ОПВ. Из 55 детей-выделителей полиовирусов только 3 ребенка были привиты ОПВ менее месяца назад, 8 детей привиты ОПВ менее двух месяцев назад, трое были привиты менее месяца назад, тип вакцины неизвестен. У 12 детей с момента вакцинации ОПВ прошло от двух месяцев до шести

Таблица 1. География прибытия детей, обследованных в СПб РЦ, 2014–2023 гг.

Table 1. Geography of arrival of examined children, 2014–2023

Страна/территория Country/Region	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	Всего Total	%
СКФО Northern Caucasus	20	19	30	14	10	170	108	116	149	103	739	22,2
Таджикистан Tajikistan	25	23	32	21	18	14	9	1018	593	129	1882	56,5
Узбекистан Uzbekistan	31	28	28	26	11	15	3	13	25	26	206	6,2
Украина Ukraine	5	8	45	11	6	4	1	11	98	3	192	5,8
Киргизия Kyrgyzstan	4	7	20	15	6	11	5	8	12	22	110	3,3
Казахстан Kazakhstan	9	4	6	3	3	5	0	7	4	4	45	1,3
Азербайджан Azerbaijan	4	2	5	6	11	4	2	0	0	3	37	1,1
Армения Armenia	0	1	4	0	2	3	0	0	6	3	19	0,5
Другие Others	8	27	24	12	4	13	6	3	3	3	103	3,1

Таблица 2. Результаты обследования детей из семей мигрантов на полиовирусы (PV)

Table 2. Results of poliovirus detection of migrant children

Год Year	Число обследованных Number of examined children	Положительные на ПВ пробы (абс./%) Positive samples (number/%)	Типы выделенных ПВ Types of polioviruses
2014	106	4/3,8%	PV2, 2PV3, PV1+PV3
2015	119	1/0,8%	PV3
2016	194	0	–
2017	108	0	–
2018	71	1/1,4%	PV1+PV3
2019	239	3/1,3%	3 PV1
2020	134	2/1,5%	2 PV3
2021	1176	16/1,4%	3PV1, 5PV2, 5PV3, 3 PV1+PV3
2022	890	27/3,0%	11PV1, 11PV3, 5 PV1+PV3
2023	296	1/0,3%	PV3
Всего Total	3333	55 (1,7%)	17PV1, 6PV2, 22PV3, 10 PV1+PV3

лет. Четверо детей не были привиты, 25 не имели сведений о вакцинации. В четырех случаях были выделены смеси полиовирусов (ПВ1+ПВ3) у детей, привитых оральной полиовирусной вакциной менее двух месяцев назад, в одном случае — у непривитого ребенка из Чеченской Республики, в трех случаях — у детей без данных о вакцинации из Таджикистана и в двух — у детей без сведений о вакцинации из Украины, ЛНР, ДНР.

В 2021 г. у пяти детей из Таджикистана, обследованных в СПб РЦ, были обнаружены штаммы нОПВ2. Всего на территориях центра было выделено 11 штаммов нОПВ2 (учтено только первичное выделение), из которых пять было выделено в СПб РЦ, 6 нОПВ2, обнаруженных путем ПЦР лабораториями территорий, были отправлены в Национальную лабораторию. Десять из этих детей были полностью или частично вакцинированы против полиомиелита, один не имел сведений о прививках. Из 11 детей лишь пятеро были официально вакцинированы новой оральной полиовирусной вакциной. От вакцинации до забора проб прошло 45–98 дней. Остальные дети, вероятно, инфицированы вакцинным штаммом при контакте с недавно привитыми, либо их родители не сообщили о факте вакцинации. У ребенка 11 мес. из Санкт-Петербурга штамм нОПВ2 был выделен дважды, пробы отобраны с интервалом в месяц. Через 6 дней после отбора второй пробы ребенок выбыл в Таджикистан. У ребенка из Ленинградской области штамм нОПВ2 выделяли трижды в течение 14 дней до получения отрицательного результата. При повторных заборах проб у остальных носителей штамма нОПВ2 результаты были отрицательными. Пробы отбирали также у членов семей, проживающих совместно с детьми-выделителями, штаммы ПВ типа 2 не были найдены ни в одном случае.

Анализ вакцинального статуса детей, прибывших из неблагополучных по полиомиелиту регионов

Для выработки защитного иммунитета к полиовирусам необходимо получить не менее трех доз полиовирусной вакцины (первичный цикл вакцинации в 3, 4,5 и 6 месяцев). Среди обследованных детей из неблагополучных по полиомиелиту территорий, только 42,5% детей были иммунизированы тремя и более дозами полиовирусной вакцины (ИПВ или ОПВ) (табл. 3). 12,1% детей получили одну или две дозы вакцины, то есть были привиты не полностью. Более трети детей (36,8%) не имели сведений о вакцинации, такие дети подлежат вакцинации по отечественному календарю прививок, начиная с первой дозы инактивированной полиовирусной вакцины. Дети, не привитые по разным причинам, в том числе в связи медицинскими

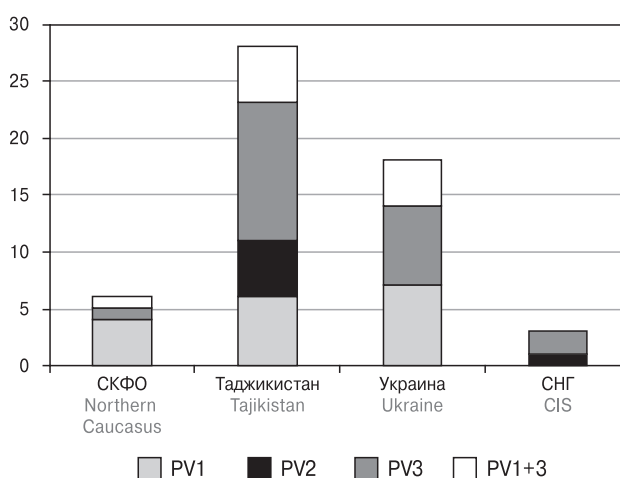


Рисунок. Типы полиовирусов, выделенных от детей, прибывших из неблагополучных территорий, 2014–2023 гг.

Figure. Poliovirus types, isolated from migrant children, 2014–2023

Таблица 3. Вакцинальный статус детей, прибывших из неблагополучных по полиомиелиту территорий, обследованных в СПб РЦ, 2014–2023 гг.

Table 3. Vaccination status of migrant children, examined in Subnational polio laboratory, 2014–2023

Вакцинальный статус детей Vaccination status	Прибывших из СКФО Children from Northern Caucasus		Прибывших из других стран Children from other countries		Всего Total	
	Число детей Number of children	%	Число детей Number of children	%	Число детей Number of children	%
Нет данных о вакцинации Without data about vaccination	204	27,6	1024	39,5	1228	36,8
Медицинский отвод Medical exemption	33	4,5	1	0,0	34	1,0
Не привит Unvaccinated	98	13,3	122	4,7	220	6,6
Отказ от вакцинации Refuse from vaccination	32	4,3	0	0	32	1,0
Менее 3 доз вакцины < 3 dose of polio vaccine	179	24,3	223	8,6	402	12,1
3 и более доз вакцины 3 and more dose of polio vaccine	192	26,0	1225	47,2	1417	42,5
Всего Total	738	100%	2595	100%	3333	100%

отводами (часто не обоснованными) или с отказами от прививок со стороны родителей, составили 8,6% от всех детей. Таким образом, как непривитых следует расценивать 45,4% детей, прибывших из неблагополучных по полиомиелиту стран и территорий.

Следует обратить внимание на значительные проценты детей из обеих категорий, прибывших на территории СПб РЦ, без сертификатов вакцинации (27,6% и 39,5%). При этом большинство детей из СКФО приезжали для консультации и лечения в соматические стационары. В этой категории детей также отмечены медицинские

отводы (4,5%) и отказы от вакцинации (4,3%). Кроме того, немало детей, имеющих менее трех доз полиовирусных вакцин, были старше 12 месяцев. Следовательно, дети из обеих категорий относятся к группе серьезного риска в отношении полиомиелита, и за ними необходим постоянный надзор. Среди стран, из которых на территории РФ прибывали дети, особое внимание было обращено на Республику Таджикистан, поскольку там в разные годы была зафиксирована циркуляция «диких» полиовирусов и цПВВП2. Именно из этой страны в РФ прибыло большинство детей, подлежащих обследованию.

Таблица 4. Процент лиц, серонегативных к полиовирусам, среди жителей и мигрантов на одной из территорий Российской Федерации

Table 4. Percentage of persons seronegative for polioviruses among resident and migrant children in one of the territory of Russia

Категория обследованных детей Examined children groups	Число детей Number of children	Процент серонегативных к полиовирусам % of seronegative for polioviruses			
		PV1	PV2	PV3	PV1+PV2+PV3/PV1+PV3
2006–2010 гг. (вакцинация тОПВ) 2006–2010 years (tOPV vaccination)					
Дети – резиденты территории Resident children	1012	2,0±0,4	1,5±0,4	6,0±0,7	0,4±0,2
Дети из семей мигрантов Migrant children	169	20,1±3,0	18,7±3,1	25,4±3,3	12,4±2,6
2017–2022 гг. (вакцинация бОПВ) 2017–2022 years (bOPV vaccination)					
Дети – резиденты территории Resident children	1177	2,3±0,3	n/a	5,6±0,6	1,5±0,3
Дети из семей мигрантов Migrant children	106	17,1±3,2	n/a	29,3±3,6	11,3±3,0

В Калининградской области на протяжении ряда лет проводили сбор данных о напряженности иммунитета к полиовирусам у детей, проживающих в Калининградской области, и у прибывших туда из неблагополучных по полиомиелиту территорий без сведений о прививках. Исследование сывороток крови выполнено сотрудниками вирусологической лаборатории ФБУЗ Центра гигиены и эпидемиологии в Калининградской области. Данные по сравнению напряженности иммунитета к полиовирусам у детей разных категорий в 2006–2010 и 2017–2022 гг. приведены в табл. 4.

Полученные результаты показывают, что процент серонегативных к полиовирусам разных типов сывороток крови у детей, прибывших в РФ из неблагополучных по полиомиелиту стран (Таджикистан) как в 2006–2010, так и в 2017–2022 гг., значительно превышал процент серонегативных к полиовирусам сывороток детей — резидентов Калининградской области. В 2006–2010 гг. разница между долями серонегативных к трем полиовирусам (ПВ1, ПВ2 и ПВ3) сывороток у детей двух категорий составила 10, 12,5 и 4,2 раза соответственно. В 2017–2022 гг. доли серонегативных к двум полиовирусам (ПВ1 и ПВ3) сывороток у прибывших детей были в 7,4 и в 5,2 раза выше по сравнению с детьми-резидентами. Аналогичная ситуация была зафиксирована в отношении процентов трижды или дважды серонегативных к полиовирусам сывороток крови детей из семей прибывших и детей — резидентов Калининградской области (в 2006–2010 гг. — в 30 раз, в 2017–2022 гг. — в 7,5 раза).

Обсуждение

Распространение трудовыми мигрантами возбудителей инфекционных заболеваний является одним из современных вызовов системе здравоохранения. Однако в научной литературе встречается не так много исследований, посвященных проблеме носительства патогенных микроорганизмов среди иностранных граждан, прибывающих в нашу страну [1, 2]. Медицинское обследование проходят в основном граждане, устраивающиеся на работу. Хотя члены их семей, в том числе дети, также могут являться носителями возбудителей инфекционных заболеваний. В предыдущем исследовании СПб РЦ были показаны различия в спектре неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных от детей, прибывших из неблагополучных по полиомиелиту территорий, и детей, постоянно проживающих на территориях РФ [4].

В популяции, где для вакцинации против полиомиелита используется оральная полиовирусная вакцина, закономерно обнаружение

вакцинных полиовирусов у детей, недавно привитых ОПВ. В странах СНГ для иммунизации активно используется ОПВ, поэтому полиовирусы у прибывших из неблагополучных по полиомиелиту территорий детей разных возрастов выделяют регулярно. Обычно экскреция полиовируса с фекалиями продолжается не более двух месяцев после вакцинации в зависимости от количества полученных доз ИПВ и ОПВ [17]. Как показало наше исследование, вакцинные полиовирусы обнаруживаются не только у детей, привитых оральной вакциной в последние два месяца, но и у детей, вакцинированных ОПВ значительно раньше, а также у непривитых детей. Это свидетельствует о широкой циркуляции полиовирусов среди населения неблагополучных по полиомиелиту территорий. Для сравнения, у детей с энтеровирусной инфекцией, постоянно проживающих в РФ, которые были обследованы на энтеровирусы за аналогичный промежуток времени, полиовирусы в среднем выделяли в 0,2% проб (данные документации для подтверждения свободного от полиомиелита статуса субъектов, курируемых СПб РЦ, не опубликовано). Кроме того, необходимо учитывать различия в национальных календарях прививок. В РФ современная последовательная схема вакцинации против полиомиелита включает четыре начальные дозы ИПВ и две последующие дозы БОПВ. В странах СНГ схемы вакцинации предусматривают не менее одной дозы ИПВ, затем дети получают разное число доз ОПВ. Например, в Республике Таджикистан дети должны получить после одной дозы ИПВ еще три дозы БОПВ. При проведении Национальных дней иммунизации или подчищающей иммунизации охват вакцинацией ОПВ возрастает, и не у всех детей в медицинской истории сохраняются сведения о количестве полученных доз живой полиомиелитной вакцины. Контакт невакцинированного ребенка, например, в детском коллективе, с живым полиовирусом опасен тем, что может привести к развитию вакциноассоциированного паралитического полиомиелита [5].

Время циркуляции полиовирусов среди населения зависит от состояния коллективного иммунитета к полиомиелиту, формируемого вакцинацией. По данным Роспотребнадзора, в субъектах РФ охват вакцинацией и ревакцинацией против полиомиелита за десятилетний период, как правило, был выше 95%. В отдельных районах с малым числом детей, где этот показатель мог быть ниже, проводили подчищающую иммунизацию. В неблагополучных по полиомиелиту странах охват вакцинацией в отдельные годы существенно снижался и был значительно ниже 95%, необходимых для формирования устойчивого коллективного иммунитета. Так, на момент вспышки в октябре 2021 г.

в Украине охват тремя дозами вакцины против полиомиелита составлял лишь 34,5% [18]. Таким образом, в стране создались подходящие условия для длительной трансмиссии полиовирусов.

В 2021 г. материал от детей из Таджикистана в СПб РЦ поступил с 11 из 14 территорий центра. Согласно новому алгоритму, прибывшие с 1 июня по 31 августа обследовались в ФБУЗ Центрах гигиены и эпидемиологии территорий, в любое другое время — в лабораториях региональных центров. В ФБУЗ Центрах гигиены и эпидемиологии территорий и в лаборатории СПб РЦ суммарно было исследовано 1815 проб от здоровых детей из Таджикистана, было обнаружено 11 полиовирусов типа 2, по результатам ВТД принадлежащих к вакцинным штаммам нОПВ2. В двух случаях последующие заборы проб также давали положительный результат. В некоторых случаях повторный забор происходил более чем через месяц после первоначального, поэтому не представлялось возможным получить достоверные данные о длительности выделения штамма нОПВ2 детьми, вакцинированными новой полиовирусной вакциной. Тем не менее полученные данные свидетельствуют о том, что вакцинированные нОПВ2 способны длительно выделять жизнеспособные полиовирусы, которые могут передаваться другим лицам при близких контактах. Наблюдениями за циркуляцией штаммов нОПВ2 в странах, где активно проводят кампании вакцинации новой оральной вакциной, показано, что у штаммов нОПВ2 также возможен возврат нейровирулентности, хотя намного реже, чем у штаммов Сэбина. В связи с этим надзор за детьми из стран, где применяется новая оральная полиовирусная вакцина нОПВ2, является обоснованным и необходимым.

В 2022 г. много полиовирусов было выделено от детей из Украины и новых российских территорий. Это можно объяснить тем, что вынужденные переселенцы контактировали с украинскими детьми, имеющими разный вакцинальный статус. Недавно привитые оральной вакциной дети могли передать вакцинные полиовирусы по контакту другим детям. Кроме того, в ряде случаев забор материала для исследования у детей происходил после вакцинации БОПВ, что является грубым нарушением алгоритма обследования детей. В таких случаях были выделены смеси вакцинных полиовирусов типов 1 и 3, входящие в состав оральной полиовирусной вакцины БОПВ.

Анализ вакцинального статуса детей, прибывших из неблагополучных по полиомиелиту стран и территорий, показал, что у многих детей отсутствуют сведения о вакцинации. Значительное число детей не имело прививок или они были не полностью привиты. Это в равной мере относится к детям из неблагополучных по полиомие-

литу субъектов РФ, входящих в СКФО, и к детям из иностранных государств с неблагополучной по полиомиелиту ситуацией. Данные сравнительного анализа эффективности вакцинации против полиомиелита детей из одного субъекта РФ и детей, прибывших туда из Республики Таджикистан, свидетельствуют о серьезных недостатках системы иммунизации в этой стране.

В странах с хорошим охватом вакцинацией, использующих ИПВ, с 2016 г. не наблюдали вспышек, связанных с передачей полиовируса типа 2 [15]. В настоящее время ВОЗ обеспокоена ростом числа случаев выявления цПВВП2 в Американском и Европейском регионах. Выявлена циркуляция ПВВП2 в странах, применяющих только ИПВ (США, Израиль, Великобритания, Франция, Нидерланды, Германия). Это прежде всего связано с отказами от вакцинации в некоторых религиозных сообществах и с миграционными потоками. Также надо помнить, что при использовании только ИПВ у населения не формируется мукозальный (кишечный) иммунитет, тогда как применение только ОПВ не дает ожидаемой сероконверсии [11]. При завозе в страну жизнеспособных полиовирусов могут возникать проблемы, поскольку ИПВ не предотвращает циркуляцию и трансмиссию завезенных ПВ. В странах, использующих одну дозу ИПВ и БОПВ, наблюдается снижение уровня как мукозального, так и гуморального иммунитета к полиовирусу типа 2 [9, 22].

Близость стран с низким охватом вакцинацией против полиомиелита и недостатками системы санитарного надзора является фактором риска заноса полиовирусов, имеющих эпидемическое значение. Для РФ это некоторые страны СНГ, прежде всего Республика Таджикистан, а также Украина. Анализ процентов лиц серонегативных к полиовирусам разных типов на протяжении ряда лет показал, что у прибывших из Таджикистана и Украины значительно чаще не оказывается защитных антител к полиовирусам, что говорит о недостаточном охвате вакцинацией в этих странах. Кроме того, в самой Российской Федерации также есть территории повышенного риска заноса и распространения ПВВП.

Заключение

Трудовые мигранты из стран СНГ, а также жители южных регионов РФ, неблагополучных по полиомиелиту, ежегодно прибывают на все территории СПб РЦ. ФБУЗ Центрами гигиены и эпидемиологии и региональным центром в 2021 и 2022 гг. была проделана большая работа с целью недопущения завоза и распространения полиовирусов вакцинного происхождения из Республики Таджикистан и Украины. Объем

проведенных исследований наряду с отсутствием регистрации заболеваний паралимпическим полиомиелитом в субъектах РФ, курируемых СПб РЦ позволяет сделать вывод о том, что случаев завоза полиовирусов вакцинного происхождения в эти субъекты не было. Штаммы новой оральной полиовирусной вакцины нОПВ2 были выделены от детей, прибывших на ряд территорий СПб РЦ, но они не получили распространения. Только систематический надзор и вирусологическое обследование таких детей позволяют выявить случаи импортирования и завоза на территории РФ эпидемически зна-

чимых полиовирусов (диких и ПВВП) и вовремя принять меры по предотвращению их трансмиссии среди населения нашей страны. Важнейшее значение имеет поддержание высокого уровня охвата плановой вакцинацией против полиомиелита, а также дополнительная иммунизация против полиомиелита детей, прибывших из неблагополучных по этой инфекции стран и территорий. Комплекс данных мероприятий обеспечит полный контроль эпидемической ситуации и поддержание свободного от полиомиелита статуса 14 территорий СПб РЦ и Российской Федерации в целом.

Список литературы/References

1. Ланкин А.О., Сокол В.В., Николаев В.А., Фурсова Е.А. Медико-социальные аспекты туберкулеза трудовых мигрантов // Научное обозрение. Медицинские науки. 2022. № 3. С. 86–90. [Lankin A.O., Sokol V.V., Nikolaev V.A., Firsov E.A. Medical and social aspects of tuberculosis in migrant workers. *Nauchnoe obozrenie. Meditsinskie nauki = Scientific Review. Medical Sciences*, 2022, vol. 3, pp. 86–90. (In Russ.)]
2. Рахматулина М.Р., Брико Н.И., Новоселова Е.Ю., Лопухов П.Д. Рост заболеваемости сифилисом в Российской Федерации: иностранные граждане-мигранты как группа риска распространения заболевания // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2023. Т. 100, № 6. С. 454–461. [Rakhmatulina M.R., Briko N.I., Novoselova E.Yu., Lopukhov P.D. Increasing incidence of syphilis in the Russian Federation: foreign migrant citizens as a risk group for the spread of the disease *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2023, vol. 6, pp. 454–461. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-382
3. Романенкова Н.И., Бичурина М.А., Розаева Н.Р., Погребная Т.Н. Роль эпидемиологического надзора за мигрантами в системе надзора за полиомиелитом // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2012. Т. 89, № 6. С. 27–31. [Romanenkova N.I., Bichurina M.A., Rozaeva N.R., Pogrebnyaya T.N. The role of epidemiologic surveillance of migrants in the system of poliomyelitis control. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2012, vol. 89, no. 6, pp. 27–31. (In Russ.)]
4. Романенкова Н.И., Канаева О.И., Бичурина М.А., Розаева Н.Р. Детекция неполиомиелитных энтеровирусов у больных острыми вялыми параличами, детей из организованных коллективов и детей из семей мигрантов // Журнал инфектологии. 2014. Т. 6, № 4. С. 43–48. [Romanenkova N.I., Kanaeva O.I., Bichurina M.A., Rozaeva N.R. Detection of Nonpolio Enteroviruses among children with acute flaccid paralysis from institutions and from migrants' families. *Zhurnal infekologii = Journal Infectology*, 2014, vol. 6, no. 4, pp. 43–48. (In Russ.)]
5. Романенкова Н.И., Розаева Н.Р., Бичурина М.А., Канаева О.И., Чхинджерия И.Г. Вакциноассоциированный паралимпический полиомиелит и острые вялые параличи на ряде территорий России за двадцатилетний период // Журнал инфектологии. 2019. Т. 11, № 3. С. 102–109. [Romanenkova N.I., Rozaeva N.R., Bichurina M.A., Kanaeva O.I., Chkhindzheriya I.G. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis and acute flaccid paralysis on some territories of Russia during 20 years. *Zhurnal infekologii = Journal Infectology*, 2019, vol. 11, no. 3, pp. 102–109. (In Russ.)] doi: 10.22625/2072-6732-2019-11-3-102-109
6. Руководство по лабораторным исследованиям полиомиелита. 4-е изд. Женева: ВОЗ, 2005. 112 с. [Manual for the virological investigation of polio. 4th ed. Geneva: WHO, 2004. 112 p. (In Russ.)] URL: http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO_IVB_04.10.pdf
7. СанПиН 3.3686-21. Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней [Sanitary rules for prevention of infectious diseases 3.1.2951-11. (In Russ.)] URL: https://www.rosпотребнадзор.ru/files/news/SP_infections_compressed.pdf
8. Троценко О.Е., Сапега Е.Ю., Бутакова Л.В. Актуальные аспекты этиологии, эпидемиологии и профилактики полиомиелита и энтеровирусной (неполио) инфекции на национальном и глобальном уровне // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2023. № 45. С. 86–98. [Trotsenko O.E., Sapega E.Yu., Butakova L.V. Current aspects of etiology, epidemiology and prevention of poliomyelitis and enterovirus (non-polio) infection of national and global levels. *Dal'nevostochnyj zhurnal infektsionnoy patologii = Far Eastern Journal of Infectious Pathology*, 2023, vol. 45, pp. 86–98. (In Russ.)]
9. Asturias E.J., Bandyopadhyay A.S., Self S., Rivera L., Saez-Llorens X., Lopez E., Melgar M., Gaensbauer J.T., Weldon W.C., Oberste M.S., Borate B.R., Gast C., Clemens R., Orenstein W., O’Ryan M.G., Jimeno J., Clemens S.A.C., Ward J., Rüttimann R.; Latin American IPV001BMG Study Group. Humoral and intestinal immunity induced by new schedules of bivalent oral poliovirus vaccine and one or two doses of inactivated poliovirus vaccine in Latin American infants: an open-label randomised controlled trial. *Lancet*, 2016, vol. 388, no. 10040, pp. 158–169. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00703-0
10. Burns C.C., Shaw J., Jorba J., Bukbuk D., Adu F., Gumede N., Pate A.M., Abanida E.A., Gasasira A., Iber J., Chen Q., Vincent A., Chenoweth P., Henderson E., Wannemuehler K., Naeem A., Umami R.N., Nishimura Y., Shimizu H., Baba M., Adeniji A., Williams A.J., Kilpatrick D.R., Oberste M.S., Wassilak S.G., Tomori O., Pallansch M.A., Kew O. Multiple independent emergences of type 2 vaccine-derived polioviruses during a large outbreak in northern Nigeria. *J. Virol.*, 2013, vol. 87, no. 9, pp. 4907–4922. doi: 10.1128/JVI.02954-12
11. Connor R.I., Brickley E.B., Wieland-Alter W.F., Ackerman M.E., Weiner J.A., Modlin J.F., Bandyopadhyay A.S., Wright P.F. Mucosal immunity to poliovirus. *Mucosal Immunol.*, 2022, vol. 15, no. 1, pp. 1–9. doi: 10.1038/s41385-021-00428-0

12. Cooper L.V., Erbetto T.B., Danzomo A.A., Abdullahi H.W., Boateng K., Adamu U.S., Shuaib F., Modjirom N., Gray E.J., Bandyopadhyay A.S., Zipursky S., Okiror S.O., Grassly N.C., Blake I.M. Effectiveness of poliovirus vaccines against circulating vaccine-derived type 2 poliomyelitis in Nigeria between 2017 and 2022: a case-control study. *Lancet Infect. Dis.*, 2023, vol. 24, no. 4, pp. 427–436. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00688-6
13. Kilpatrick D.R., Yang C.F., Ching K., Vincent A., Iber J., Campagnoli R., Mandelbaum M., De L., Yang S.-J., Nix A., Kew O.M. Rapid group-, serotype-, and vaccine strain-specific identification of poliovirus isolates by real-time reverse transcription-PCR using degenerate primers and probes containing deoxyinosine residues. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, vol. 47, no. 6, pp. 1939–1941. doi: 10.1128/JCM.00702-09
14. Macklin G.R., O'Reilly K.M., Grassly N.C., Edmunds W.J., Mach O., Santhana Gopala Krishnan R., Voorman A., Vertefeuille J.F., Abdelwahab J., Gumede N., Goel A., Sosler S., Sever J., Bandyopadhyay A.S., Pallansch M.A., Nandy R., Mkanda P., Diop O.M., Sutter R.W. Evolving epidemiology of poliovirus serotype 2 following withdrawal of the serotype 2 oral poliovirus vaccine. *Science*, 2020, vol. 368, no. 6489, pp. 401–405. doi: 10.1126/science.aba1238
15. Macklin G.R., Peak C., Eisenhawer M., Kurji F., Mach O., Konz J., Gast C., Bachtiar N.S., Bandyopadhyay A.C., Zipursky S., nOPV2 Working Group. Enabling accelerated vaccine roll-out for Public Health Emergencies of International Concern (PHEICs): Novel Oral Polio Vaccine type 2 (nOPV2) experience. *Vaccine*, 2023, vol. 41, no. 6, pp. 122–127. doi: 10.1016/j.vaccine.2022.02.050
16. Mangal T.D., Aylward R.B., Mwanza M., Gasasira A., Abanida E., Pate M.A., Grassly N.C. Key issues in the persistence of poliomyelitis in Nigeria: a case-control study. *Lancet Glob. Health*, 2012, vol. 2, no. 2, pp. 90–97. doi: 10.1016/S2214-109X(13)70168-2
17. Minor P.D., Dunn G., Ramsay M.E., Brown D. Effect of different immunisation schedules on the excretion and reversion of oral poliovaccine strains. *J. Med. Virol.*, 2005, vol. 75, no. 1, pp. 153–160. doi: 10.1002/jmv.20250
18. Special report on the 36th meeting of the European Regional Certification Commission for Poliomyelitis Eradication: Copenhagen, Denmark, 19–20 October 2022: twenty years of polio-free status in the WHO European Region. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2022. *Copenhagen: WHO Regional Office for Europe*, 2022. URL: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2023-6967-46733-68044>
19. Statement following the Thirty-seventh Meeting of the IHR Emergency Committee for Polio. URL: <https://www.who.int/news/item/22-12-2023-statement-following-the-thirty-seventh-meeting-of-the-ih-er-emergency-committee-for-polio>
20. Te Yeh M., Bujaki E., Dolan P.T., Smith M., Wahid R., Konz J., Weiner A.J., Bandyopadhyay A.S., Van Damme P., Coster I.D., Revets H., Macadam A., Andino R. Engineering the live-attenuated polio vaccine to prevent reversion to virulence. *Cell. Host Microbe*, 2020, vol. 27, no. 5, pp. 736–751. doi: 10.1016/j.chom.2020.04.003
21. Weekly Epidemiological Record. Progress towards polio eradication worldwide, January 2022–December 2023, vol. 99, no. 21, pp. 274–283. URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376866/WER9921-eng-fre.pdf>
22. Wright P.F., Connor R.I., Wieland-Alter W.F., Hoen A.G., Boesch A.W., Ackerman M.E., Oberste M.S., Gast C., Brickley E.B., Asturias E.J., Rüttimann R., Bandyopadhyay A.S. Vaccine-induced mucosal immunity to poliovirus: analysis of cohorts from an open-label, randomised controlled clinical trial in Latin American infants. *Lancet Infect. Dis.*, 2016, vol. 16, no. 12, pp. 1377–1384. doi: 10.1016/S1473-3099(16)30169-4

Авторы:

Канаева О.И., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Романенкова Н.И., к.м.н., старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Евсеева В.А., научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Толстых Н.А., к.б.н., научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Погребная Т.Н., зав. вирусологической лабораторией ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Калининградской области, Калининград, Россия;

Блохинова М.А., лаборант-исследователь лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Антоненков К.А., лаборант-исследователь лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Kanaeva O.I., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Romanenkova N.I., PhD (Medicine), Senior Researcher, Leading Researcher, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Evseeva V.A., Researcher, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Tolstykh N.A., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Pogrebnyaya T.N., Head of the Virological Laboratory, Center of Hygiene and Epidemiology in Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation;

Blokhinova M.A., Research Laboratory Assistant, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Antonenkov K.A., Research Laboratory Assistant, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

АНТИТЕЛА К ПОВЕРХНОСТНЫМ БЕЛКАМ ECHOVIRUS 30 (*ENTEROVIRUS, PICORNAVIRIDAE*) В КРОВИ ЖИТЕЛЕЙ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Д.А. Мелентьев^{1,2}, Д.В. Новиков¹, В.А. Лапин^{1,2}, Е.В. Мохонова¹, М.И. Цыганова¹,
Э.А. Манакова³, В.В. Новиков^{1,2}

¹ ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

² ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия

³ ООО «Централизованная лаборатория «АВК-Мед», г. Нижний Новгород, Россия

Резюме. Echovirus 30 (E30) является энтеровирусом, вызывающим тяжелые формы серозного менингита. Вирус E30 на протяжении многих лет является причиной вспышек серозного менингита во всем мире, в том числе и в России, но состояние популяционного иммунитета к E30 в настоящее время остается неизученным. В 2022 г. из всех заболевших энтеровирусной инфекцией, поступивших в стационары, доля детей в среднем по России составила 97%, наиболее тяжелые формы инфекции регистрировались у детей до 17 лет. На поверхности капсида вируса представлены белки VP1, VP2 и VP3, имеющие эпитопы, общие с гомологичными белками других энтеровирусов, что позволяет использовать их в качестве антигена для обнаружения антител. Целью работы было исследование частоты обнаружения антител разных классов к полноразмерным рекомбинантным белкам VP1, VP2 и VP3 E30. В работе использовали 331 образец сыворотки крови жителей Нижегородской области в возрасте от 2 месяцев до 61 года. Рекомбинантные белки VP1, VP2 и VP3 E30 экспрессированы в *E. coli*, очищены хроматографически и использованы в качестве антигена для обнаружения антител класса IgA, IgG и IgM иммуноферментным методом. У большинства людей антитела были выявлены только к одному или двум из поверхностных белков E30. Антитела IgA, IgG и IgM одновременно к трем рекомбинантным белкам обнаружены в 0,3%, 4,2% и 2,7% случаев соответственно. Суммарно антитела класса IgG против белков E30 обнаруживались в 29,9% случаев. Максимальная частота выявления IgG-антител (50,0%) регистрировалась в группе детей и снижалась с возрастом. IgM-антитела обнаружены у 9,3% тестируемых лиц. Наибольшая частота обнаружения (16,6%) была в возрастной группе 19–45 лет. Суммарная частота выявления IgA-антител составила 16,5%, достигая 36,8% в группе детей от 7 до 11 лет. Полученные на основе обнаружения IgM-антител данные свидетельствуют, что в исследуемый период почти каждый десятый из участников исследования был инфицирован энтеровирусами. Результаты изучения состояния длительного иммунитета энтеровирусным белкам показали, наибольшую частоту обнаружения IgG-антител у детей с последующей тенденцией к снижению с возрастом, а также о продолжающейся циркуляции вируса E30 в Нижегородской области.

Ключевые слова: энтеровирус, ECHO30, антитела, иммуноферментный анализ, белки, иммунитет.

Адрес для переписки:

Мелентьев Дмитрий Александрович
603950, Россия, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71,
ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.
Тел.: 8 960 180-13-21. E-mail: dim-melente@yandex.ru

Contacts:

Dmitrii A. Melentev
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod,
Malaya Yamskaya str., 71, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod
Scientific and Research Institute of Epidemiology and Microbiology
of the Rospotrebnadzor.
Phone: +7 960 180-13-21. E-mail: dim-melente@yandex.ru

Для цитирования:

Мелентьев Д.А., Новиков Д.В., Лапин В.А., Мохонова Е.В., Цыганова М.И.,
Манакова Э.А., Новиков В.В. Антитела к поверхностным белкам
Echovirus 30 (Enterovirus, Picornaviridae) в крови жителей Нижегородской
области // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1179–1186.
doi: 10.15789/2220-7619-BAC-16103

Citation:

Melentev D.A., Novikov D.V., Lapin V.A., Mokhonova E.V., Tsiganova M.I.,
Manakova E.A., Novikov V.V. Blood anti-surface proteins Echovirus 30
(Enterovirus, Picornaviridae) antibodies in residents of the Nizhny Novgorod
region // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet,
2024, vol. 14, no. 6, pp. 1179–1186. doi: 10.15789/2220-7619-BAC-16103

BLOOD ANTI-SURFACE PROTEINS ECHOVIRUS 30 (*ENTEROVIRUS, PICORNAVIRIDAE*) ANTIBODIES IN RESIDENTS OF THE NIZHNY NOVGOROD REGION

Melentev D.A.^{a,b}, Novikov D.V.^a, Lapin V.A.^{a,b}, Mokhonova E.V.^a, Tsiganova M.I.^a, Manakova E.A.^c, Novikov V.V.^{a,b}

^a Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Nizhny Novgorod, Russian Federation

^b N.I. Lobachevskii National Research Nizhny Novgorod State University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

^c LLC "Centralized laboratory "AVK-Med", Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. Echovirus 30 (E30) is an enterovirus that causes severe forms of serous meningitis. Over many years, E30 virus has caused serous meningitis outbreaks all over the world including Russia, but the status of anti-E30 population immunity remains unexplored. In 2022, the average percentage of all pediatric admission enterovirus cases in Russia was 97%; the most severe E30 infection cases were registered in children under 17 years of age. The virus capsid surface contains proteins VP1, VP2 and VP3 with homologous epitopes common to other enterovirus proteins, which allows them to be used as an antigen for antibody detection. The work was aimed at assessing frequency of different antibody classes specific to full-length recombinant E30 VP1, VP2 and VP3 proteins. 331 blood serum samples collected from 2 months-to 61 year-old residents of the Nizhny Novgorod region were used in the study. E30 VP1, VP2 and VP3 proteins were expressed in *Escherichia coli*, purified chromatographically and used antigenically for detection of IgA, IgG and IgM antibodies by using enzyme-linked immunosorbent immunoassay. Most study subjects had antibodies specific to only one or two of the E30 surface proteins. IgA, IgG and IgM antibodies to three recombinant proteins were detected simultaneously in 0.3%, 4.2% and 2.7% of cases. Totally, anti-E30 protein IgG antibodies were detected in 29.9% of cases. The maximum detection rate of antibodies (50.0%) was recorded in pediatric groups that decreased with age. IgG antibodies were found in 9.3% of the tested individuals. The detection rate (16.6%) peaked in the age group of children from 7 to 11 years. The IgM antibody-obtained data evidence that during the study period, almost one in every ten-study participant was infected with enteroviruses. The results of analyzing long-term immunity specific to enteroviral proteins showed the highest frequency of detected IgG antibodies in children that tended to decline with age as well as about continued E30 virus circulation in the Nizhny Novgorod region.

Key words: enterovirus, ECHO30, antibodies, ELISA, proteins, immunity.

Введение

Энтеровирусы (семейство *Picornaviridae*, род *Enterovirus*) — это безоболочечные РНК-содержащие вирусы, представленные 106 патогенными для человека типами, объединенными в 4 вида — Enterovirus A (ЭВА), Enterovirus B (ЭВВ), Enterovirus C (ЭВС), Enterovirus D (ЭВД) [10, 18]. Наибольшей распространенностью обладают энтеровирусы видов ЭВА и ЭВВ [8].

Энтеровирусная инфекция (ЭВИ) характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и может протекать как в форме бессимптомного носительства, так и острого лихорадочного состояния, с тяжелыми осложнениями, включая полиомиелит, полиомиелитоподобное заболевание, менингит, менингоэнцефалит, миокардит, гепатит и др. [3, 7, 13, 17]. Кроме этого, в настоящее время обсуждается роль ЭВИ как фактора, провоцирующего развитие сахарного диабета 1 типа у детей [15].

Молекулярный мониторинг циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ) на территории Российской Федерации позволил идентифицировать более 52 типов [4]. Частота обнаружения различных энтеровирусов зависит от сезона и региона. Из всех заболевших ЭВИ, поступивших в инфекционные стационары, доля детей, в среднем по России, составила 97%, наиболее тяжелые формы инфекции регистрировались у детей до 17 лет [6]. Энтеровирусом, вызывающим тяжелые формы

серозного менингита, является Echovirus 30 (E30) — представитель вида Enterovirus B. Вирус E30 на протяжении многих лет является причиной вспышек серозного менингита во всем мире, в том числе и в России [5, 14].

Структурные и неструктурные белки энтеровирусов различных типов содержат консервативные аминокислотные последовательности, формирующие общие В-клеточные эпитопы [9]. Консервативные области используются в качестве общего эпитопа для определения антител к широкому спектру энтеровирусов [1, 12]. При ЭВИ IgM-антитела против энтеровирусов образуются в первые дни инфекции и сохраняются в течение 2–3 месяцев. Это позволяет как диагностировать ЭВИ, так и оценивать их распространенность по частоте обнаружения IgM-антител в исследуемый период. IgG-антитела против НПЭВ сохраняются в течение трех и более лет и отражают состояние длительного иммунитета [9]. Обнаруживаются также IgA-антитела к энтеровирусам, наличие которых указывает на недавнее или продолжительное инфицирование слизистой оболочки кишечника [16].

Следует отметить, что подавляющее большинство исследований по мониторингу НПЭВ в РФ проводят среди госпитализированных в инфекционные больницы, также исследуются сточные воды. Используется культура клеток или ОТ-ПЦР [2, 4]. Однако в настоящее время состояние популяционного иммунитета у них остается малоизученным.

Целью настоящей работы было исследование частоты обнаружения антител разных классов к Е30 с использованием полноразмерных рекомбинантных белков VP1, VP2 и VP3, формирующих капсид вируса.

Материалы и методы

В работе использовали образцы сыворотки крови 331 человека в возрасте от 2 месяцев до 61 года, полученные в первой половине 2022 г. из диагностического центра «Гемохелп» («Централизованная лаборатория «АВК-Мед») от проживающих на территории Нижегородской области лиц, обратившихся для проведения диагностических исследований и давших письменное согласие на использование их биоматериала в исследовании. Тестируемые образцы сыворотки крови были разделены на группы согласно рекомендациям ВОЗ в соответствии с возрастом сдавших кровь лиц. В первую группу вошли образцы сыворотки крови детей в возрасте от 2 месяцев до 18 лет ($n = 128$), во вторую группу вошли образцы сыворотки крови от лиц возрастом от 19 до 44 лет ($n = 102$) и в третью группу — образцы, полученные от лиц возрастом от 45 до 60 лет ($n = 101$). Образцы, полученные от детей, дополнительно были разделены на три подгруппы в соответствии с возрастом: дошкольники от 0,2 до 6 лет ($n = 34$), дети от 7 до 11 лет ($n = 19$, начальная школа), дети от 12 до 18 лет ($n = 75$, старшеклассники).

Для получения рекомбинантных белков использовали нуклеотидные последовательности, представленные в работе [11] и в GenBank № MF678335.1. После оптимизации кодонов ДНК была синтезирована в ООО «Люмипроб РУС» (Россия). ДНК размером 888 п.о., 798 п.о. и 744 п.о. соответствующей VP1, VP2 и VP3 области энтеровирусного генома, клонировали в составе вектора рЕТ22b (Novagen, США), рекомбинантные белки экспрессировали в клетках *E. coli* штамм Rosetta 2 (DE3). Очистку белков проводили в денатурирующих условиях в присутствии 6М мочевины с использованием сефарозы Ni-NTA Superflow (GE Healthcare). Рекомбинантный VP1 ренатурировали диализом против градиента концентраций мочевины, для ренатурации VP2 и VP3 использовали диализ против градиента концентраций сахарозы. Полученные белки анализировали с помощью электрофореза в 10% полиакриламидном геле с окрашиванием Coomassie brilliant blue R250.

Очищенные рекомбинантные белки разводили физиологическим раствором (0,9% NaCl) до 0,5 мкг/мл и сорбировали в лунки 96-луночных планшетов в течение 24 ч при 4°C. Планшеты отмывали 5 раз раствором ФСБ-Т (0,01 М натрий-фосфатный буферный раствор, 0,9% NaCl

и 0,1% Твин-20, pH7,4), в каждую лунку вносили по 85 мкл ФСБ-Т, 5 мкл осветленного лизата клеток *E. coli* Rosetta 2 (DE3) и 10 мкл сыворотки крови. Инкубировали 60 мин в шейкере при 37°C. Планшеты промывали 5 раз ФСБ-Т и в лунки вносили раствор вторичных антител, меченных пероксидазой хрена. Для выявления антител класса IgG использовали моноклональные антитела клона 3D3cc (Hytest, Россия), для выявления антител класса IgM — моноклональные антитела клона 2B9cc (Hytest, Россия), для выявления антител класса IgM использовали поликлональные антитела GAN1aa (ИМТЕК, Россия). Планшеты с внесенными в лунки мечеными пероксидазой антителами инкубировали 60 мин при температуре 37°C и отмывали пять раз ФСБ-Т. Для визуализации реакции в лунки планшетов вносили по 100 мкл 0,04% тетраметилбензидина и 0,02% перекиси водорода в натрий-цитратном буферном растворе pH 5,0. Реакцию останавливали 1N серной кислотой и измеряли величину оптической плотности на спектрофотометре Infinite M200 Pro (Tecan, Austria) в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 680 нм.

Анализ полученных данных проводили с использованием компьютерных программ Magellan 7.2 (Tecan, Austria) и Microsoft Excel (Microsoft, США). ОП_{крит} (cut off) рассчитывали, используя общепринятую методику по формуле $ОП_{к-} \times k$ (константа), $k = 3$. Образцы со значениями оптической плотности (ОП) выше $ОП_{к-} \times 3$ принимали за содержащие антитела, а с меньшим значением ОП — за отрицательные. В качестве отрицательного контроля использовали сыворотку крови крупного рогатого скота.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия хи-квадрат Пирсона. Наличие статистически значимых различий принимали при $p < 0,05$. Поиск общих для энтеровирусов аминокислотных последовательностей в базе данных GenBank (NCBI), проводили с помощью компьютерной программы Protein Blast, доступной в сети Интернет (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Результаты

С использованием бактериальной системы экспрессии были получены очищенные рекомбинантные белки VP1, VP2 и VP3 Е30. Электрофоретический анализ белков продемонстрировал, что их молекулярная масса соответствовала расчетной: VP1 — 33,5 kDa, VP2 — 29,6 kDa, VP3 — 27,5 kDa (рис. 1). Полученные белки были использованы в качестве антигенов для определения в сыворотке крови тестируемых лиц антител разных классов, взаимодействующих с этими белками.

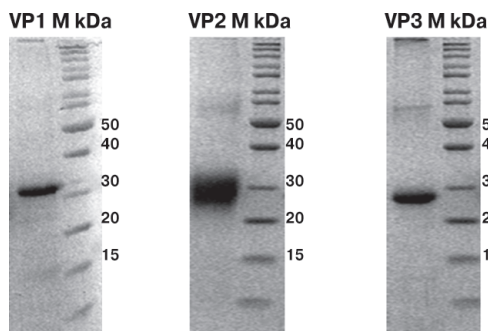


Рисунок 1. Электрофоретическая подвижность рекомбинантных белков VP1, VP2 и VP3 E30 в 10% ПААГ

Figure 1. Electrophoretic motility of recombinant VP1, VP2 and VP3 E30 proteins in 10% PAGE

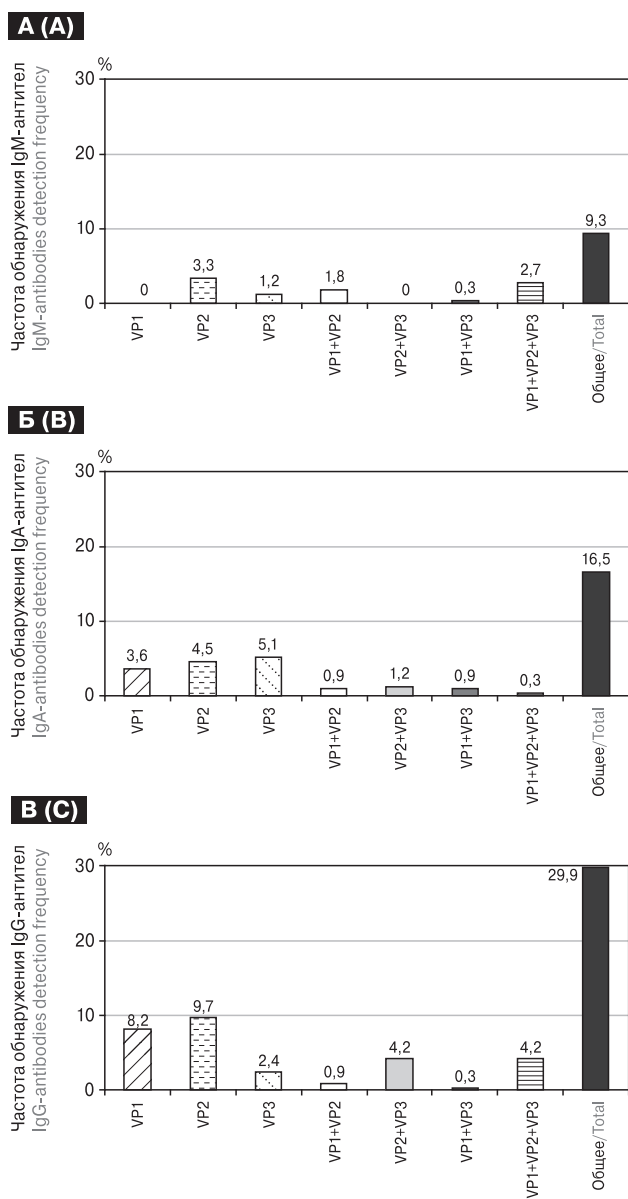


Рисунок 2. Частота обнаружения антител разных классов к рекомбинантным белкам VP1, VP2 и VP3
Figure 2. Frequency of detection of antibodies of different classes to recombinant proteins VP1, VP2 and VP3

Антитела против VP1, VP2 и VP3 класса IgM обнаруживались в образцах сыворотки крови тестированных лиц в 9,3% случаев. Частота встречаемости антител против каждого из трех рекомбинантных белков различалась. Антитела класса IgM против только VP1 не обнаруживались ни в одном из 331 тестированных образцов. IgM-антитела против VP2 и VP3 выявлены в 3,3% и 1,2% случаев. Одновременное присутствие IgM-антител против VP1 и VP2 зарегистрировано в 1,8% случаев, против VP1 и VP3 — всего в 0,3% случаев. IgM-антитела к VP2 и VP3 в одном и том же образце сыворотки крови не выявлены ни в одном случае, но 2,7% образцов содержали IgM-антитела против всех трех тестированных белков, что составило, в свою очередь, 29,0% от всех IgM-положительных проб (рис. 2).

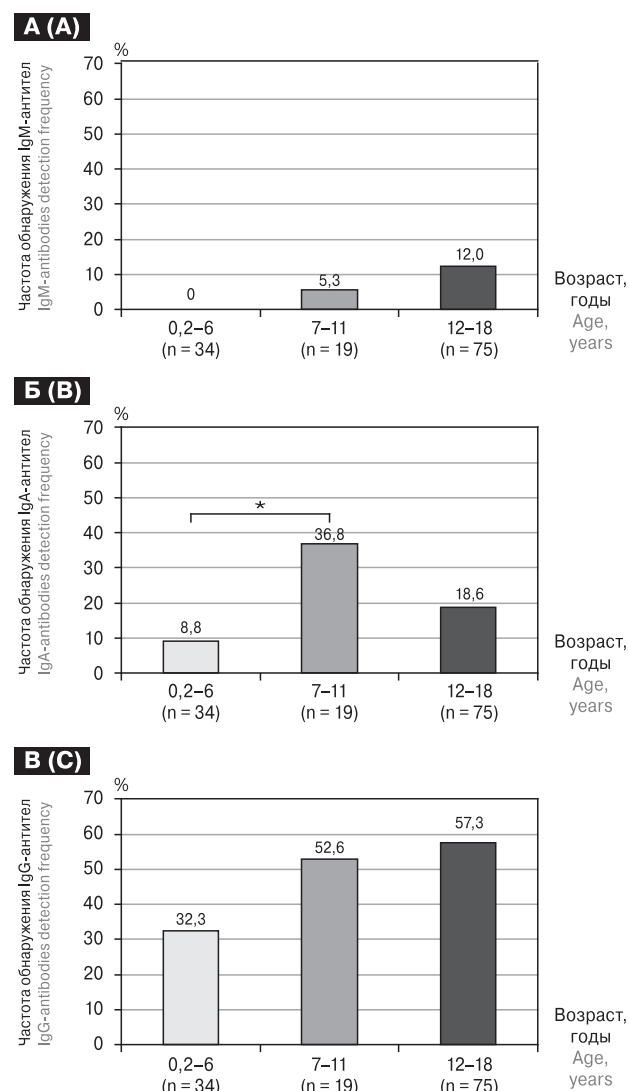


Рисунок 3. Частота обнаружения антител к рекомбинантным белкам E30 в крови детей разного возраста

Figure 3. The frequency of detection of antibodies to recombinant proteins E30 in the blood of children of different ages

Антитела класса IgG встречались в 29,9% случаев. При этом в 20,3% образцах присутствовали антитела к какому-либо одному из тестируемых белков, в 5,4% образцов обнаруживались антитела к двум рекомбинантным белкам и в 4,2% случаев встречались IgG-антитела против всех трех белков. В общем массиве IgG-положительных образцов крови такие образцы составили 14,0%.

Антитела класса IgA суммарно выявлялись в 16,5% тестируемых образцов. Чаще всего обнаруживались антитела к отдельным рекомбинантным белкам (13,2%). Также обнаруживались образцы, содержащие IgA-антитела одновременно к двум рекомбинантным белкам (3,0%). Образцы, содержащие IgA-антитела сразу к трем белкам, составили лишь 0,3% от общего числа тестируемых образцов сыворотки крови, что составило, в свою очередь, всего 1,8% от всех IgA-положительных проб.

Суммарно антитела против рекомбинантных белков E30 обнаружены в 43,2% случаев (143 из 331 образца сыворотки крови). Из них антитела против какого-либо одного рекомбинантного белка выявлены в 24,2% случаев (80 из 331 образца), антитела против двух из трех белков E30 обнаруживались в 11,5% случаев (38 из 331 образца), а антитела разных классов против всех трех рекомбинантных белков были выявлены в 7,5% случаев (25 из 331 образца).

Частота обнаружения антител классов IgM, IgG и IgA против VP1, VP2 и VP3 не различалась у мужчин и женщин (данные не представлены). Однако для антител классов IgM и IgG выявлены возрастные особенности их встречаемости (табл.). Антитела класса IgM, взаимодействующие с рекомбинантными белками, чаще всего обнаруживались в образцах сыворотки крови лиц возрастом 19–40 лет. Высокая частота встречаемости IgM-антител у лиц данного возраста была обусловлена в основном повышенной до 13,7% встречаемостью IgM-антител против рекомбинантного VP2. Встречаемость антител класса IgA статистически значимо не менялась в разных возрастных группах. При этом частота обнаружения антител класса IgG демонстрировала выраженную возрастную зависимость. Чаще всего IgG-антитела выявлялись в образцах сыворотки крови детей. Каждый второй образец сыворотки крови лиц до 18 лет содержал IgG-антитела к рекомбинантным белкам. В более старших возрастных группах этот показатель кратно понижался. Динамика изменения частоты встречаемости IgG-антител носила сходный характер для всех трех рекомбинантных белков.

Так как энтеровирусные инфекции представляют наибольшую опасность для детей, нами был проведен анализ частоты обнаружения антител у детей разного возраста. Как видно из рис. 3,

с повышением возраста частота обнаружения антител класса IgM против белков E30 повышалась от нуля до 12,0%. Частота выявления IgG-антител также нарастала с повышением возраста и достигала 57,3% (рис. 3). Наибольшая частота выявления антител класса IgA регистрировалась в образцах сыворотки крови от детей 7–11 лет (36,8%). Она статистически значимо превышала в 4,2 раза частоту обнаружения антител в крови детей до 6 лет ($p = 0,013$). Обнаруживалось также двукратное, хотя и статистически не значимое, превышение частоты обнаружения антител в крови детей от 12 до 18 лет.

Обсуждение

В настоящей работе для определения частоты обнаружения антител против белков E30 были использованы полноразмерные рекомбинантные белки VP1, VP2 и VP3 E30, экспрессированные в *E. coli*. Как следует из полученных данных, в сыворотке крови тестируемых лиц с разной частотой определялись антитела всех трех классов. Антитела класса IgG против рекомбинантных белков E30 обнаруживались в 29,9% образцов крови. Максимальная частота выявления антител регистрировалась в крови детей от 12 до 18 лет, а затем понижалась с возрастом. Сходную возрастную динамику продемонстрировали антитела класса IgM. Частота их обнаружения нарастала и достигала пика в возрастной группе 19–40 лет с последующим падением. При этом частота обнаружения антител класса IgM в среднем была почти в 2 раза ниже, чем у IgG-антител. Частота выявления IgA-антител оказалась самой высокой в группе детей от 7 до 11 лет, достигая 36,8%, что вдвое превышало среднюю частоту встречаемости IgA-антител. В подавляющем большинстве случаев антитела класса A детектировались только к одному или комбинации из двух поверхностных белков E30. Вероятно, обнаружение IgA в крови всех возрастных групп косвенно отражают циркуляцию энтеровирусов, поражающих слизистую оболочку кишечника. Суммарно антитела против рекомбинантных белков E30 обнаружены в 43,2% случаев. В большинстве случаев антитела были направлены только к одному или двум из поверхностных белков E30. Суммарные антитела к трем белкам E30 обнаружены в 7,5% случаев.

В соответствии с эпидемиологическими данными, в 2022 г. сезонный подъем заболеваемости ЭВИ, приводящей к госпитализации больных, в Нижегородской области начался с июня. Пик заболеваемости пришелся на август, причем в возрастной структуре госпитализированных, как в случаях sporadicческой заболеваемости, так и в групповых очагах, преобладало детское население [6]. Поскольку антитела класса

Таблица. Доля лиц разного возраста, серопозитивных по отношению к рекомбинантным белкам E30 (%)

Table. Proportion of persons of different ages seropositive to recombinant E30 proteins (%)

Антиген Antigen	Антитела Antibody	Возраст (лет) Age (years)		
		0–18 (n = 128)	19–40 (n = 102)	41–61 (n = 101)
VP1	IgM	7,0	4,9	2,0
	IgA	7,8	4,9	4,0
	IgG	29,6	3,9*	2,0*
VP2	IgM	7,0	13,7	3,0**
	IgA	5,4	5,9	6,9
	IgG	29,6	17,6*	5,9***
VP3	IgM	4,6	5,9	2,0
	IgA	8,5	5,9	2,0
	IgG	18,8	10,8	5,9***
Всего Total	IgM	7,8	16,6*	4,0
	IgA	18,7	13,7	16,8
	IgG	50,0	25,4*	8,9***

Примечание. Статистически значимые различия с лицами возрастом: * — от 0,2 до 18 лет; ** — от 19 до 40 лет.

Note. Statistically significant differences with persons of age: * — from 0.2 to 18 years; ** — from 19 to 40 years.

IgM продуцируются при первичном иммунном ответе и с высокой долей вероятности обнаруживаются в период заболевания, на основании наших данных можно предположить, что скрытая активная циркуляция ЭВИ среди взрослого населения в первой половине год явилась триггером подъема заболеваемости среди детей в летний период.

Представленные данные о частоте выявления антител к белкам E30 в целом соответствуют данным других авторов. Так, проведенное в Китае в 2016 г. серологическое исследование присутствия нейтрализующих антител к эховирусу 30 в крови здоровых лиц, показало, что при использовании реакции микронеutralизации средняя серопревалентность составляла 25,2% и повышалась от 6,7% у детей возрастом менее 1 года до максимума в возрастных группах 7–19 и 20–39 лет (36,0% и 47,8% соответственно) [19]. Описанное распределение сходно с полученными нами результатами частоты обнаружения антител класса IgG против E30. Заметим, что в исследовании китайских коллег, наряду с антителами против E30, тестировались антитела против нескольких энтеровирусов и было продемонстрировано наличие антител, нейтрализующих несколько различных энтеровирусов [19].

Биоинформационный анализ аминокислотных последовательностей полученных нами рекомбинантных белков VP1, VP2 и VP3 показал, что в каждом из них присутствовало по крайней мере по одному из описанных ранее общих для энтеровирусов В-клеточных эпитопов. Эпитоп E2, присутствующий в рекомбинантном VP1, является общим для многих энтеровирусов видов А, В или С, включая poliovirus 1 и poliovirus 3 GenBank: OQ286220. Эпитоп E9, присутствующий у VP2, обнаружен в основном у энтеровирусов вида В, а эпитоп E14, имею-

щийся у VP3, характерен для энтеровирусов видов А, В и С (включая poliovirus 2 GenBank: ADR82079.1) [9, 11]. То есть наличие антител против полученных нами рекомбинантных белков не является во всех случаях свидетельством развития иммунных реакций против E30, а может быть следствием инфицированности организма другими энтеровирусами. Можно предположить, что наличие антител против всех трех белков E30 с большей вероятностью является свидетельством инфицирования именно этим вирусом. При наличии антител к одному или двум белкам вируса существует определенная вероятность присутствия в крови антител, выработанных в ответ на другие энтеровирусы. При этом нельзя исключать и возможность присутствия в крови антител к уникальным для E30 эпитопам. Данный вопрос нуждается в дополнительном изучении. Кроме этого, реальная доля носителей антител к разным энтеровирусам в целом вероятно выше выявленной, поскольку используемый нами метод позволяет детектировать антитела только к эпитопам, присутствующим у капсидных белков E30. Заметим, что примененные нами в работе рекомбинантные белки VP1 и VP3 содержат эпитопы, присутствующие у энтеровирусов вида С (PV1, PV2 и PV3), которые используются составе вакцин против полиомиелита. Однако установленная нами высокая частота обнаружения IgG-антител к белку VP2, не содержащему общих с вакцинными штаммами эпитопов, свидетельствует, что популяционный иммунитет формировался за счет инфицирования неполлиомиелитными энтеровирусами. При этом наличие в крови антител класса IgM к рекомбинантным белкам позволяет высказать предположение, что почти каждый десятый из тестированных мог быть инфицирован энтеровирусами в первой половине 2022 г.

Следует отметить, что сбор материала для сероэпидемиологического исследования происходил во время проведения ограничительных мер, связанных с новой коронавирусной инфекцией, что могло повлиять на полученные результаты. Тем не менее полученные нами данные в целом указывают на продолжающуюся циркуляцию вируса E30 среди населения одного из центральных регионов Российской Федерации. Однако доля серопозитивных лиц, имеющих широкий спектр антител разных классов к белкам E30, невысока, что формирует риски возможного подъема заболеваемости.

Заключение

С использованием рекомбинантных белков VP1, VP2 и VP3 вируса E30, проведен анализ популяционного иммунитета против энтеровирусов на территории Нижегородской области. В собранных в первой половине 2022 г. образцах крови от людей разного возраста проведено

определение антител классов IgM, IgG и IgA к рекомбинантным белкам. На основе обнаружения IgM-антител показано, что почти каждый десятый из участников исследования был инфицирован энтеровирусами в первой половине 2022 г. Наибольшая частота обнаружения IgM-антител регистрировалась в возрастной группе 19–40 лет. Результаты изучения состояния длительного иммунитета к НПЭВ показали, наибольшую частоту обнаружения IgG-антител у детей с последующей тенденцией к снижению с возрастом. Обнаружение антител класса А опосредованно указывает на циркуляцию энтеровирусов, поражающих слизистую оболочку кишечника во всех возрастных группах. Наличие в структуре белков E30 общих с другими энтеровирусами эпитопов, позволило предположить, что популяционный иммунитет формировался за счет инфицирования населения разными неполиомиелитными энтеровирусами, циркулировавшими в исследованный период.

Список литературы/References

1. Дедюля К.Л., Поклонская Н.В., Амвросьева Т.В., Безручко А.А., Богуш З.Ф., Казинец О.Н. Использование рекомбинантного энтеровирусспецифического полипептида в качестве антигена при разработке диагностической тест-системы // Военная медицина. 2010. № 3. С. 87–91. [Dziadziulia K.L., Poklonskaya N.V., Amyrosieva T.V., Bezruchko A.A. Bogush Z.F., Kazinez O.N. Use of a recombinant enterovirus-specific polypeptide as an antigen in the development of a diagnostic test system. *Voennaya meditsina = Military Medicine*, 2010, no. 3, pp. 87–91. (In Russ.)]
2. Демина А.В., Маркович Н.А., Нетесов С.В. Энтеровирусы. Часть I: история открытия, таксономия, строение генома, эпидемиология // Сибирский научный медицинский журнал. 2008. № 1. С. 92–100. [Demina A.V., Markovich N.A., Netesov S.V. Enteroviruses. Part I: History of discovery, taxonomy, genome structure, epidemiology. *Sibirskii nauchnyi meditsinskii zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*, 2008, no. 1, pp. 92–100. (In Russ.)]
3. Канаева О.И. Энтеровирусная инфекция: многообразие возбудителей и клинических форм // Инфекция и иммунитет. 2014. Т. 4, № 1. С. 27–36. [Kanaeva O.I. Enterovirus infection: variety of etiological factors and clinical manifestations. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2014, vol. 4, no. 1, pp. 27–36. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2014-1-27-36
4. Лукашев А.Н., Голицына Л.Н., Вакуленко Ю.А., Ахмадишина Л.В., Романенкова Н.И., Сапега Е.Ю., Морозова Н.С., Новикова Н.А., Троценко О.Е., Иванова О.Е. Современные возможности и направления развития молекулярно-эпидемиологического мониторинга в надзоре за энтеровирусными инфекциями. Опыт Российской Федерации // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 4. С. 452–464. [Lukashev A.N., Golitsina L.N., Vakulenko Y.A., Akhmadishina L.V., Romanenkova N.I., Sapega E.Y., Morozova N.S., Morozova N.S., Novikova N.A., Trotsenko O.E., Ivanova O.E. Current possibilities and potential development of molecular enterovirus surveillance. Experience of Russian Federation. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 4, pp. 452–464. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-4-452-464
5. Лукашев А.Н., Иванова О.Е., Еремеева Т.П., Лашкевич В.А., Черненко К.Е. Молекулярная эпидемиология вируса ECHO 30 на территории России и стран СНГ // Вопросы вирусологии. 2004. № 5. С. 12–16. [Lukashev A.N., Ivanova O.E., Eremeeva T.P., Lashkevich V.A., Chernenko K.E. Molecular epidemiology of the ECHO 30 virus in Russia And CIS countries. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2004, no. 5, pp. 12–16. (In Russ.)]
6. Михайлова Ю.М., Черепанова Е.А. Энтеровирусная (неполио) инфекция в Российской Федерации в 2022 г. // Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции: информационный бюллетень. 2023. № 10. С. 3–5. [Mihajlova J.M., Cherepanova E.A. Enteroviral (non-polio) infection in the Russian Federation in 2022. *Morbidity, etiological structure and issues of prevention of enterovirus (non-polio) infection: factsheet*, 2023, no. 10, pp. 3–5. (In Russ.)]
7. Новиков Д.В., Мелентьев Д.А. Энтеровирусные (Picornaviridae: Enterovirus) (неполио) вакцины // Вопросы вирусологии. 2022. Т. 67, № 3. С. 185–192. [Novikov D.V., Melentev D.A. Enteroviral (Picornaviridae: Enterovirus) (nonpolio) vaccines. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2022, vol. 67, no. 3, pp. 185–192. (In Russ.)] doi: 10.36233/0507-4088-111
8. Новикова Н.А., Голицына Л.Н., Фомина С.Г., Ефимов Е.И. Молекулярный мониторинг неполиомиелитных энтеровирусов на территории России в 2008–2011 гг. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2013. № 1. С. 75–78. [Novikova N.A., Golitsyna L.N., Fomina S.G., Efimov E.I. Molecular monitoring of non-polio enteroviruses in European territory of Russia in 2008–2011. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2013, no. 1, pp. 75–78. (In Russ.)]
9. Aw-Yong K.L., NikNadia N.M.N., Tan C.W., Sam I., Chan Y.F. Immune responses against enterovirus A71 infection: Implications for vaccine success. *Rev. Med. Virol.*, 2019, vol. 29, no. 5: e2073. doi: 10.1002/rmv.2073

10. Brouwer L, Moreni G, Wolthers K.C, Pajkrt D. World-wide prevalence and genotype distribution of enteroviruses. *Viruses*, 2021, vol. 13: 434. doi: 10.3390/v13030434
11. Bubeck D., Filman D.J., Cheng N., Steven A.C., Hogle J.M., Belnap D.M. The Structure of the poliovirus 135S cell entry intermediate at 10-angstrom resolution reveals the location of an externalized polypeptide that binds to membranes. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, no. 12, pp. 7745–7755. doi: 10.1128/JVI.79.12.7745-7755.2005
12. Cello J., Samuelson A., Stalhandske P., Svennerholm B., Jeansson S., Forsgren M. Identification of group-common linear epitopes in structural and nonstructural proteins of enteroviruses by using synthetic peptides. *J. Clin. Microbiol.*, 1993, vol. 31, pp. 911–916. doi: 10.1128/jcm.31.4.911-916.1993
13. Liu S.L., Pan H., Liu P., Amer S., Chan T.C., Zhan J., Huo X., Liu Y., Teng Z., Wang L., Zhuang H. Comparative epidemiology and virology of fatal and nonfatal cases of hand, foot and mouth disease in mainland China from 2008 to 2014. *Rev. Med. Virol.*, 2015, vol. 25, pp. 115–128. doi: 10.1002/rmv.1827
14. Lukashov A.N., Ivanova O.E., Ereemeeva T.P., Gmyl L.V. Analysis of echovirus 30 isolates from Russia and new independent states revealing frequent recombination and reemergence of ancient lineages. *J. Clin. Microbiol.*, 2008, vol. 46, no. 2, pp. 665–670. doi: 10.1128/JCM.02386-06
15. Magloire P.N., Enagnon K.A., Didier H. Persistent coxsackievirus B infection and pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2022, vol. 18, no. 8, pp. 503–516. doi: 10.1038/s41574-022-00688-1
16. Nekoua M.P., Mercier A., Vergez I., Morvan C., Mbani C.J., Sane F., Lobert D., Engelmann I., Romond M.B., Alidjinou E.K., Hober D. [Coxsackievirus B infection and pathogenesis of type 1 diabetes]. *Virologie (Montrouge)*, 2022, vol. 26, no. 6, pp. 415–430. (In French). doi: 10.1684/vir.2022.0976
17. Pons-Salort M., Parker E.P.K., Grassly N.C. The epidemiology of non-polio enteroviruses: recent advances and outstanding questions. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 2015, vol. 28, pp. 479–487. doi: 10.1097/QCO.0000000000000187
18. Simmonds P., Gorbalenya A.E., Harvala H., Hovi T., Knowles N.J., Lindberg A.M., Oberste M.S., Palmenberg A.C., Reuter G., Skern T., Tapparel C., Wolthers K.C., Woo P.C.Y., Zell R. Recommendations for the nomenclature of enteroviruses and rhinoviruses. *Arch. Virol.*, 2020, vol. 165, no. 3, pp. 793–797. doi: 10.1007/s00705-019-04520-6
19. Zhu R., Cheng T., Yin Z., Liu D., Xu L., Li Y., Wang W., Liu J., Que Y., Ye X., Tang Q., Zhao Q., Ge S., He S., Xia N. Serological survey of neutralizing antibodies to eight major enteroviruses among healthy population. *Emerg. Microbes. Infect.*, 2018, vol. 7, no. 1: 2. doi: 10.1038/s41426-017-0003-z

Авторы:

Мелентьев Д.А., младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия; аспирант кафедры молекулярной биологии и иммунологии ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия;

Новиков Д.В., к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Лапин В.А., младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия; аспирант ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия;

Моханова Е.В., научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Цыганова М.И., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Манакова Э.А., к.м.н., директор по медицине, врач клинической лабораторной диагностики ООО «Централизованная лаборатория «АВК-Мед», г. Нижний Новгород, Россия;

Новиков В.В., д.б.н., профессор, зав. лабораторией иммунохимии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия; профессор кафедры молекулярной биологии и иммунологии ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия.

Authors:

Melentev D.A., Junior Researcher, Laboratory of Immunochemistry, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific and Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russian Federation; PhD Student, Department of Molecular Biology, N.I. Lobachevskii National Research Nizhny Novgorod State University, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Novikov D.V., PhD (Biology), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory of Immunochemistry, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific and Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Lapin V.A., Junior Researcher, Laboratory of Immunochemistry, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific and Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russian Federation; PhD Student, N.I. Lobachevskii National Research Nizhny Novgorod State University, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Mokhonova E.V., Researcher, Laboratory of Immunochemistry, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific and Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Tsiganova M.I., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Immunochemistry, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific and Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Manakova E.A., PhD (Medicine), Director of Medicine, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostic, LLC “Centralized laboratory “AVK-Med”, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Novikov V.V., DSc (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Immunochemistry, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific and Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Rospotrebnadzor, Nizhny Novgorod, Russian Federation; Professor of the Department of Molecular Biology, N.I. Lobachevskii National Research Nizhny Novgorod State University, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

HERD IMMUNITY TO VACCINE PREVENTABLE INFECTIONS IN SAINT PETERSBURG AND THE LENINGRAD REGION: SEROLOGICAL STATUS OF MEASLES, MUMPS, AND RUBELLA

A.Yu. Popova^a, S.A. Egorova^b, V.S. Smirnov^b, E.B. Ezhlova^a, A.M. Milichkina^b,
A.A. Melnikova^a, N.S. Bashketova^c, O.A. Istorik^d, L.V. Buts^d, E.S. Ramsay^b, I.V. Drozd^b,
O.B. Zhimbaeva^b, V.G. Drobyshevskaya^b, E.M. Danilova^b, V.A. Ivanov^b, A.A. Totolian^b

^a Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation

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

^c Rospotrebnadzor Office for St. Petersburg, St. Petersburg, Russian Federation

^d Rospotrebnadzor Office for Leningrad Region, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Specific measles, mumps, and rubella prevention has been the main prerequisite for a striking decline in the incidence of such infections in Russia. An increase in the percentage of seronegative individuals observed in recent years resulted in higher measles incidence being directly related to low herd immunity that accounts for a population protection solely under conditions of a high density of immunized individuals and their uniform distribution in the population. The number of immunized individuals may be estimated only while conducting seroepidemiological monitoring of herd immunity. The objective of the study was to assess a level of herd immunity in the St. Petersburg and Leningrad Region population against measles, mumps, and rubella viruses. *Materials and methods.* There were enrolled 6774 residents into the study: volunteers aged from 1 to 70+ years. The representativeness of the surveyed cohort was ensured by using the Web application “Monitoring of herd immunity against socially significant infections”, used at the stage of volunteer enrollment, by randomization and regulation of the sample size in age groups. Participants filled out a questionnaire and agreed to provide venous blood samples to assess IgG antibody levels against measles, mumps, and rubella viruses by using ELISA. *Results.* In September 2023, in St. Petersburg and the Leningrad Region, herd immunity met the criterion for epidemiological well-being only with respect to rubella. In all age groups, the proportion of seronegative individuals did not exceed 15%, and most volunteers had high Ab levels, both after illness and vaccination. For measles and mumps, the criterion for epidemiological well-being is considered not to exceed more than 7% seronegative individuals. A sufficient level of measles seroprevalence was detected only in older age groups (≥ 60 years old). Sufficient mumps seroprevalence was not detected in any age group. The average population (St. Petersburg, Leningrad Region) seroprevalence magnitude for measles, rubella, and mumps viruses were 81.4%, 95.5%, and 78.4%, respectively. The problematic age groups with low measles seroprevalence (62.4–74.3%) were adolescents (12–17 years) and young adults (18–39 years). Most seropositive individuals vaccinated against measles had low Ab levels; high levels were noted mainly in older measles convalescent individuals. Low mumps seroprevalence ($\sim 70\%$) was more often observed among adults aged 18 to 49 years. The distribution of seroprevalence in various occupational group was relatively uniform, with some predominance of seropositivity among

Адрес для переписки:

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

Contacts:

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

Для цитирования:

Попова А.Ю., Егорова С.А., Смирнов В.С., Ежлова Е.Б., Миличкина А.М.,
Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Историк О.А., Буц Л.В.,
Рэмзи Э.С., Дрозд И.В., Жимбаева О.Б., Дробышевская В.Г.,
Данилова Е.М., Иванов В.А., Тотолян А.А. Популяционный иммунитет
к вакциноуправляемым инфекциям (кори, краснухе, эпидемическому
паротиту) у населения Санкт-Петербурга и Ленинградской
области // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1187–1208.
doi: 10.15789/2220-7619-HIT-17797

Citation:

Popova A.Yu., Egorova S.A., Smirnov V.S., Ezhlova E.B., Milichkina A.M.,
Melnikova A.A., Bashketova N.S., Istorik O.A., Buts L.V., Ramsay E.S.,
Drozd I.V., Zhimbaeva O.B., Drobyshevskaya V.G., Danilova E.M., Ivanov V.A.,
Totolian A.A. Herd immunity to vaccine preventable infections in Saint
Petersburg and the Leningrad region: serological status of measles,
mumps, and rubella // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya
i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1187–1208. doi: 10.15789/2220-7619-
HIT-17797

© Popova A.Yu. et al., 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-HIT-17797>

pensioners and schoolchildren. *Conclusion.* The system of specific prophylaxis for vaccine-preventable viral infections used in Russia has shown high efficacy and contributed to the formation of herd immunity, which for many years allowed to lower a risk of both sporadic and group infections to minimal levels. Currently, measles and mumps seroprevalence in the local population is maintained at insufficient level to ensure epidemiological well-being. This necessitates making appropriate management decisions and conducting additional preventive measures aimed at enhancing relevant herd immunity.

Key words: vaccine-preventable infections, herd immunity, measles, rubella, mumps, seroprevalence, antibodies, St. Petersburg, Leningrad Region, population, cohort study.

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ К ВАКЦИНОУПРАВЛЯЕМЫМ ИНФЕКЦИЯМ (КОРИ, КРАСНУХЕ, ЭПИДЕМИЧЕСКОМУ ПАРОТИТУ) У НАСЕЛЕНИЯ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Попова А.Ю.¹, Егорова С.А.², Смирнов В.С.², Ежлова Е.Б.¹, Миличкина А.М.², Мельникова А.А.¹, Башкетова Н.С.³, Историк О.А.⁴, Буц Л.В.⁴, Рэмзи Э.С.², Дрозд И.В.², Жимбаева О.Б.², Дробышевская В.Г.², Данилова Е.М.², Иванов В.А.², Тотолян А.А.²

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

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

³ Управление Роспотребнадзора по Санкт-Петербургу, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Управление Роспотребнадзора по Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. *Введение.* Специфическая профилактика кори, краснухи и эпидемического паротита явилась главной предпосылкой радикального снижения частоты этих инфекций в Российской Федерации. Наблюдающийся в последние годы рост доли серонегативных лиц привел к увеличению заболеваемости корью, что напрямую связано с низким популяционным иммунитетом, который обеспечивает защиту населения только в условиях высокой плотности иммунизированных лиц и их равномерного распределения в популяции. Оценить число иммунизированных лиц возможно лишь при проведении сероэпидемиологического мониторинга популяционного иммунитета. Цель исследования — изучение уровня популяционного иммунитета населения Санкт-Петербурга и Ленинградской области к вирусам кори, краснухи и паротита. *Материалы и методы.* В исследовании участвовали 6774 жителя региона (волонтеры) в возрасте от 1-го года до 70+ лет. Репрезентативность обследуемой когорты обеспечивалась Веб-приложением «Мониторинг популяционного иммунитета социально значимых инфекций», использованного на стадии регистрации волонтеров путем рандомизации и регулирования объема выборки в возрастных группах. В ходе исследования участники заполняли анкету и сдавали пробы венозной крови для определения IgG-антител к вирусам кори, краснухи и паротита методом ИФА с использованием тест-систем производства АО «Вектор-Бест» (Россия). *Результаты.* В сентябре 2023 г. в Санкт-Петербурге и Ленинградской области популяционный иммунитет населения соответствовал критерию эпидемиологического благополучия только в отношении краснухи — во всех возрастных группах доля серонегативных лиц не превышала 15%, большинство волонтеров имели высокий уровень антител как после заболевания, так и после вакцинации. Для кори и паротита критерием эпидемиологического благополучия считается наличие не более 7% серонегативных лиц. Достаточный уровень серопревалентности к вирусу кори выявлен только в старших возрастных группах (60 лет и старше), а к вирусу паротита не выявлен ни в одной возрастной группе. Средний уровень серопревалентности населения Санкт-Петербурга и Ленинградской области к вирусам кори, краснухи и паротита составил 81,4%, 95,5% и 78,4% соответственно. Проблемными возрастными группами с низкой серопревалентностью к вирусу кори (62,4–74,3%) оказались подростки (12–17 лет) и молодые взрослые (18–39 лет). Большинство серопозитивных лиц, вакцинированных от кори, имели низкие уровни антител; высокие уровни отмечены преимущественно у лиц старшего возраста, переболевших корью. Низкая серопревалентность к вирусу паротита чаще наблюдалась среди взрослых (около 70%) в возрасте от 18-ти до 49-ти лет. Распределение серопревалентности в зависимости от рода занятий было сравнительно однородным с некоторым преобладанием серопозитивности среди пенсионеров и школьников. *Заключение.* Используемая в РФ система специфической профилактики вакциноуправляемых вирусных инфекций показала высокую эффективность и способствовала формированию популяционного иммунитета, позволившего в течение многих лет до минимального уровня снизить риск появления как sporadic, так и групповых заболеваний. В настоящее время серопревалентность населения Санкт-Петербурга и Ленинградской области к вирусам кори и эпидемического паротита недостаточна для обеспечения эпидемиологического благополучия и требует принятия соответствующих управленческих решений и проведения дополнительных профилактических мероприятий, направленных на повышение популяционного иммунитета к этим инфекциям.

Ключевые слова: вакциноуправляемые инфекции, популяционный иммунитет, корь, краснуха, паротит, серопревалентность, антитела, Санкт-Петербург, Ленинградская область, население, когортное исследование.

Introduction

Acute infectious diseases accompany an individual person throughout their life. Most often, they manifest as sporadic cases. Less often, local outbreaks in groups or limited areas occur. A sudden increase in the number of cases above the predicted level among the population of a certain area or region is classified as an “epidemic”, and if the population of large regions or continents is involved, it is customary to use the term “pandemic” [50, 56]. A striking example of the evolution of the epidemic process is COVID-19, which began in 2020, soon developing into a pandemic that affected most countries globally. As of 06/04/2024, more than 775 million cases have been registered [68]. Currently, COVID-19 has transformed into a typical seasonal respiratory infection [47]. One of the reasons for this transformation has been the formation of herd immunity, and the use of a wide range of vaccines played a role.

Herd immunity as a protective factor for a susceptible population works only in conditions of a high proportion of immunized individuals and their uniform distribution in the population. Estimating the percentage of truly immune individuals in a population (both as a result of infection or vaccination) is a complex task. Analysis of morbidity based only on registration of laboratory-confirmed manifest forms of illness does not allow for a reliable assessment of post-infectious immunity in the population. The share of individuals with post-vaccination immunity may differ significantly from official vaccination data due to several factors: underestimation of actual population size (e.g., due to migratory processes); ineffectiveness of individual vaccine batches (e.g., due to non-adherence to storage or transportation conditions); or as a result of individuality in the formation of immunological memory in specific individuals.

These factors necessitate monitoring of herd immunity in different age groups living in all Russian administrative regions. The use of analytical methods and laboratory systems in this work allows for the prompt analysis of a large array of data. This provides a scientific basis for understanding the causes behind evolution of the epidemiological situation with respect to specific infections. Such an approach can also clarify forecasts regarding expected epidemiological conditions, events, and burdens. Vaccine-based prevention technologies have made it possible to achieve outstanding success in reducing the spread of such highly contagious infections as measles, mumps, and rubella. Nevertheless, monitoring of ongoing, adequate implementation is a prerequisite for maintaining progress in recent decades and reducing suffering.

Characteristic features of these infections are the airborne transmission mechanism and an absence of pathogen-specific therapeutic choices. In global practice, the trivalent vaccines M-M-P II and Priorix

are primarily used for specific prevention, forming effective specific immunity simultaneously to measles, mumps, and rubella [26, 41]. In Russia, the three-component vaccine Vactrivor is used for this purpose [16].

Specific prevention has been the main prerequisite for a radical reduction in the measles incidence in recent decades to sporadic cases, mainly of imported origin. However, some periods have seen fluctuations in incidence, for example from 2012 to 2018. According to Rospotrebnadzor, 6 measles cases were registered in the Leningrad Region in 2022, with 1 case in St. Petersburg. The favorable situation persisted until 2023, when the number of measles cases began to increase rapidly, and currently continues to increase, in all Russian regions.

Moreover, most cases are no longer associated with importation, and diseases and/or outbreaks occur, including among the vaccinated population. In 2023, there was a trend towards an increase in measles cases in eight regions of the Northwestern Federal District (NWF): St. Petersburg; Leningrad Region; Arkhangelsk Region; Murmansk Region; Kaliningrad Region; Vologda Region; the Komi Republic; and the Republic of Karelia.

As of September 2023, 271 verified measles cases were registered (2 per 100 000 pop.). In 70% of cases, the disease developed among unvaccinated individuals, and 5% of patients could not confirm or deny a history of vaccination. In 10% of cases, the disease developed among those vaccinated once. In 15%, occurrence was after revaccination. Most illnesses were associated in some way with importation from other countries, mainly Tajikistan. In all cases, the measles virus genotype D8 MeaNS 8248 was identified.

Rubella cases have not been registered in the Northwestern Federal District since 2021, which can probably be explained by a high level of herd immunity among the population.

Despite mumps vaccination within the framework of the national schedule, manifest cases of this disease are still observed in the city and region. In 2022, 12 cases were detected (0.09 per 100 000 pop.), mainly in St. Petersburg, and 13 cases were already registered in the first 9 months of 2023. Mumps is often observed in vaccinated individuals worldwide, which is apparently associated with a decrease in the intensity of post-vaccination immunity according to time elapsed after immunization [28, 34, 57]. Summarized data on the incidence of these infections (measles, mumps, rubella), illustrating the information above, are shown in Fig. 1.

Thus, despite vaccination against these airborne transmissible pathogens, cases of vaccine-preventable infections are still registered. The only factor capable of preventing the spread of such pathogens is the formation of herd specific immunity [2, 38, 53]. Clearly, progress in this area is impossible without an assessment of the status and strength of herd immunity, including the possible influences of age,

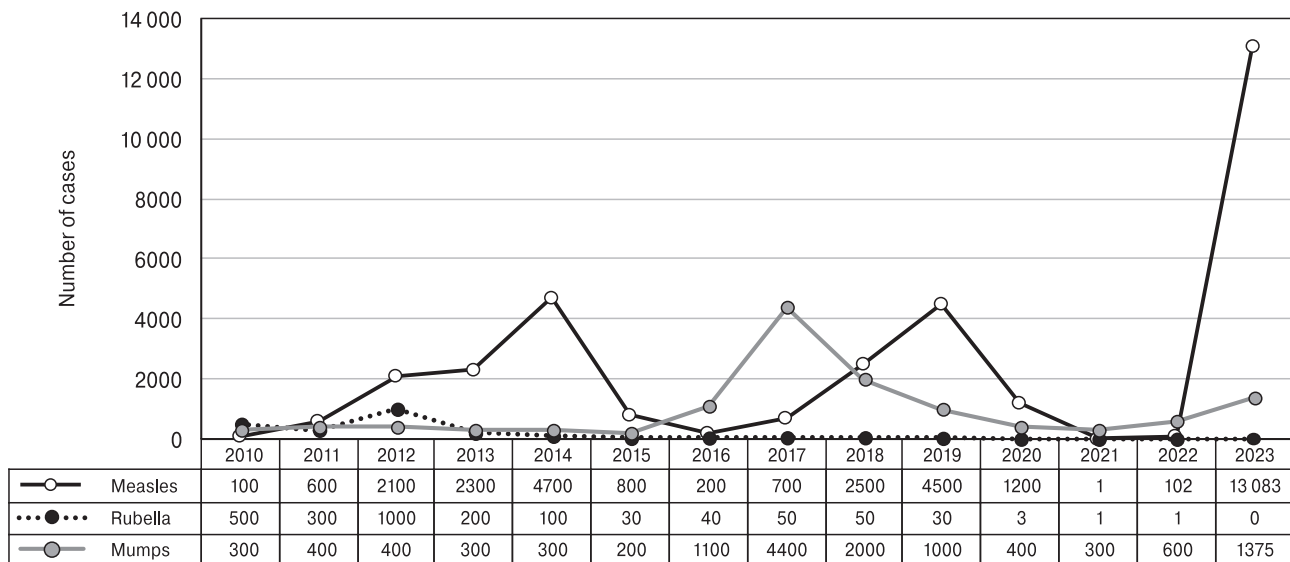


Figure 1. Annual incidence dynamics of measles, mumps, and rubella in the St. Petersburg population (2010 to 2023)

region, and professional category [30, 40]. The aim of the study was to assess herd immunity to measles, mumps, and rubella viruses in a cohort of volunteers living in St. Petersburg and the Leningrad Region.

Materials and methods

Characteristics of the analyzed volunteer cohort

A cross-sectional, randomized study was conducted under the Rospotrebnadzor program “Assessment of herd immunity to vaccine preventable and other relevant infections in the St. Petersburg and Leningrad Region Population”, as approved by the local ethics committee of the St. Petersburg Pasteur Institute. All participants, or their legal representatives, were familiarized with the purpose and methodology of the study and signed informed consent. Random selection of volunteers for the study was carried out using a web application with a questionnaire. The selected volunteers were stratified into nine age groups: 1–5 years; 6–11 years; 12–17 years; 18–29 years; 30–39 years; 40–49 years; 50–59 years; 69–69 years; and

70+ years. The size of a representative sample was calculated using a formula based on the Moivre–Laplace limit theorem [8, 15]. The total number of volunteers in the cohort surveyed was 6774 people.

Child volunteers (1–17 years) made up 20.8% of the total number of those surveyed and were divided into three groups: 1–5 years (5.4%); 6–11 years (7.5%); and 12–17 years (7.9%) (Table 1). The proportions of volunteers in adult age groups were approximately the same and differed in numbers by 1.5–2.5%. In total, the cohort consisted of 1789 men (26.4%) and 4985 women (73.6%). Hence, women participated in the study more actively (by a factor of 2.8). Representatives of various fields of activity took part in the study (Table 2).

As follows from Table 2, the largest numbers of volunteers belonged to the groups of pensioners and medical workers. The smallest was IT specialists. The predominance of pensioners and medical workers in the cohort can be explained, to a certain extent, by the greater social activity, and more responsible attitude to their health, of volunteers in these two categories.

Table 1. Age structure of the volunteer cohort (St. Petersburg, Leningrad Region)

Age, years	N, persons	Share, % (95% CI)
1–5 years	369	5.4 (1.3–9.0)
6–11 years	510	7.5 (6.9–8.2)
12–17 years	536	7.9 (7.3–8.6)
18–29 years	796	11.8 (11.0–12.5)
30–39 years	838	12.4 (11.6–13.2)
40–49 years	915	13.5 (12.7–13.4)
50–59 years	900	13.3 (12.5–14.1)
60–69 years	930	13.7 (12.9–14.6)
70+ years	980	14.5 (13.6–15.3)
Total	6774	6774

Note. 70+ designates volunteers aged ≥ 70 years.

Research methods

During a wide information campaign, individuals who expressed a desire to participate in the study filled out an online questionnaire with personal data which was sent to the Web application for subsequent analysis. The collected information included: full name; gender; age; area of residence; field of activity; presence of chronic diseases; and contact information. Individuals who met the inclusion criteria (absence of acute illness at the time of the study) were invited to provide additional information and blood for subsequent laboratory testing in person. The methodology for organizing and conducting the study has been described earlier in detail [12].

At the blood collection point, the registrar and volunteer filled out an extended questionnaire, including questions about medical history (measles, mumps, rubella, other vaccine-preventable infections). Also recorded were vaccinations and re-vaccinations against the listed infections (including vaccine names and dates of administration). The information was taken from the vaccination certificate provided by the volunteer, or clarified from other medical documentation.

In addition to the survey using a specially designed questionnaire, all volunteers were tested for the presence of antibodies to the measles, mumps, and rubella viruses.

Blood samples were taken from the ulnar vein into vacutainers containing ethylenediaminetetraacetic acid solution (K₃EDTA). Vacutainers were centrifuged at room temperature. Blood plasma was separated from cellular elements, transferred to microtubes, and stored at 4°C until testing.

ELISA testing was performed using reagent kits manufactured by Vector-Best (Russia) according to manufacturer instructions: “VectoMeasles-IgG”

Table 2. Distribution of volunteers by field of activity

Field of activity	Volunteers, N	Share, %	Confidence Interval (95%)
Healthcare	1366	20,2	19.2–21.1
Pensioner	1157	17,1	16.2–18.0
Scholars	815	12	11.3–12.8
Education	592	8,7	8.1–9.4
Office worker	563	8,3	7.7–9.0
Preschooler	433	6,4	5.8–7.0
Other	292	4,3	3.8–4.8
Industry	269	4	3.5–4.5
State-military service	262	3,9	3.4–4.4
Unemployed	252	3,7	3.3–4.2
Student	213	3,1	2.8–3.6
Business	158	2,3	2.0–2.7
Research	117	1,7	1.4–2.1
The arts	101	1,5	1.2–1.8
Transportation	100	1,5	1.2–1.8
Information tech. (IT)	84	1,2	1.0–1.5
Total	6774	100	–

for the presence and level of antibodies (Abs) to the measles virus; “VectoRubella-IgG” for the presence and level of Abs to the rubella virus; and “Vecto-Parotit-IgG” for the presence of Abs to the mumps virus. The quantitative content of antibodies to measles and rubella viruses was expressed in IU/ml. The study flow chart is shown in Fig. 2.

Statistical processing

Statistical processing was performed using methods of variation statistics and the Excel 2011 package. The relationships between age and seroprevalence

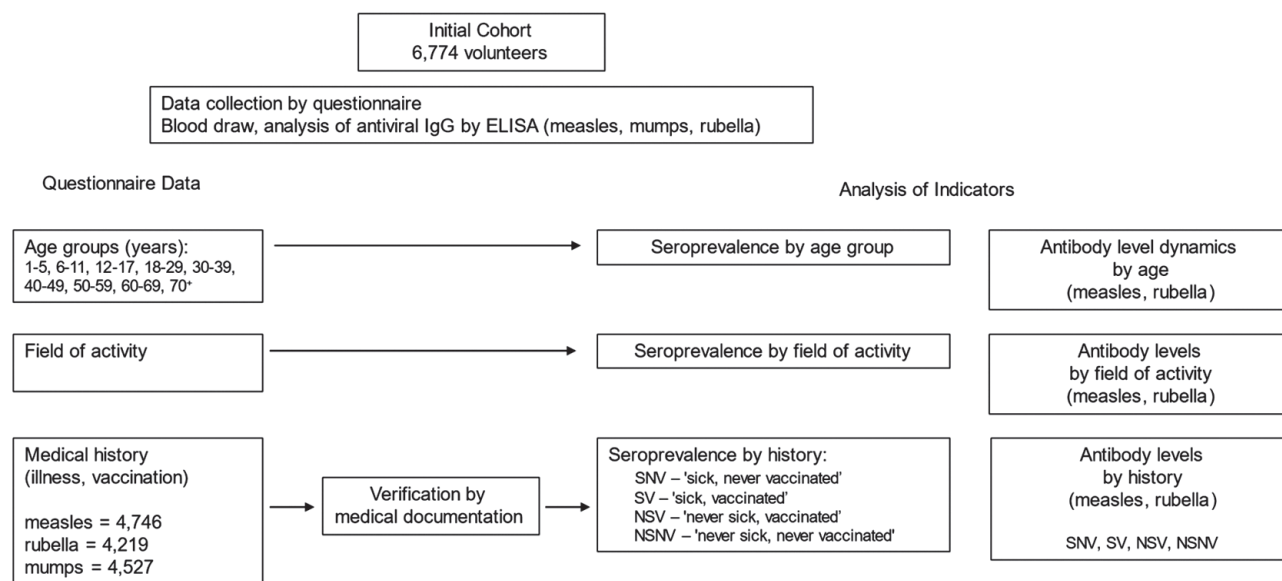


Figure 2. Study flow chart

levels were calculated using the Pearson method. Statistical processing of proportions was performed using the method of A. Wald and J. Wolfowitz [65], as modified by A. Agresti and B.A. Coull [23]. Calculation of the statistical significance of differences in shares was performed using the z test [5]. When assessing differences in the compared indicators, a probability level was used to estimate significance ($p \leq 0.05$, unless indicated otherwise).

Results

Herd immunity to the measles virus

The average measles seroprevalence in the volunteer cohort was 81.4% (95% CI: 80.4–82.3). It was distributed unevenly across age groups, specifically: with maximum values in those > 60 years of age (94.8–96.2%); and with a smaller share of seropositive volunteers in younger age groups from 12 to 49 years (< 80%). The differences were significant at $p \leq 0.05$. Seroprevalence in young children's groups (1–5 years, 6–11 years) did not differ from the average cohort value (Fig. 3).

When analyzing seroprevalence, it is necessary to take into account changes in the national measles vaccination strategy. A single vaccination was introduced in 1968.

In other words, vaccinated individuals aged 40–55 were likely vaccinated in childhood once. A full immunization program (2 vaccinations) was introduced in 1986, which correlates with those under 40 years of age. Persons over 55 years of age were likely only vaccinated in adulthood according to epidemiological indications. It was in adults, starting from 50 years of age, that we noted a statistically significant increase in seroprevalence. In the absence of routine childhood vaccination, this may indicate a previous infection. Low measles seroprevalence

among adults aged 18–39 may be associated with the socioeconomic situation in the post-Soviet period. Particularly noteworthy is the high proportion of seronegative individuals among children (18.4–25.7%), probably as a result of medical exemptions and parental refusals to vaccinate.

When assessing seroprevalence depending on field of activity, no significant differences were noted by overall professional group. However, the highest seroprevalence level (95.9%; 95% CI: 94.6–96.9) was observed among pensioners (differences with the final value of the indicator were significantly higher, $p < 0.001$), most of whom probably acquired immunity to measles as a result of a childhood infection. The lowest levels were observed among schoolchildren (77.9%; 95% CI: 74.9–80.6) and students (66.7%; 95% CI: 60.1–72.7), which were significantly lower than the final cohort value ($p < 0.05$). These data fully correlate with the age distribution of seroprevalence described above.

In addition to seroprevalence, the study included a quantitative assessment of anti-measles IgG levels in volunteers of different ages (Fig. 4).

The observed trends differed in both shape and direction. The distribution of seronegative individuals (< 0.18 IU/ml) was bell-shaped. The smallest number of such individuals was detected among those aged ≥ 60 years. The share of individuals with low anti-measles IgG levels (0.18–0.5 IU/ml) was the highest among children and gradually decreased with advancing age category. It should be noted that such dynamics are not accidental, as the correlation coefficient shows ($\rho = -0.85$; $p < 0.01$).

A negative trend was observed in relation to the average IgG level (0.5–1.0 IU/ml). As in the previous group, the largest share of individuals with average levels was detected among children. The smallest was seen among those aged ≥ 60 years ($\rho = -0.85$;

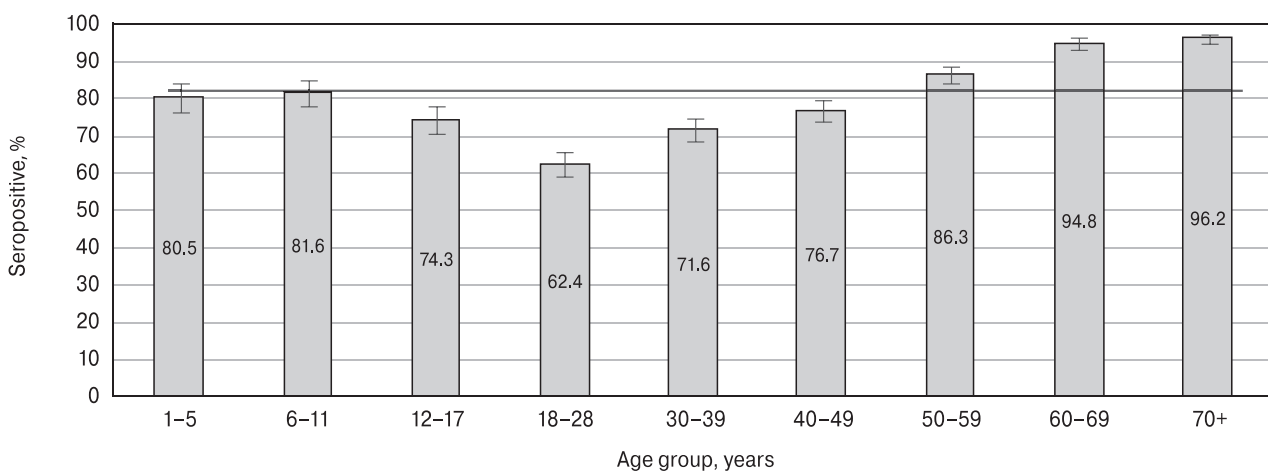


Figure 3. Measles seroprevalence (IgG presence) by age group

Note. Vertical black lines are confidence intervals; horizontal translucent band is the 95% confidence interval of the final value for the entire sample (81.4%; 95% CI: 80.4–82.3). Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 1S.

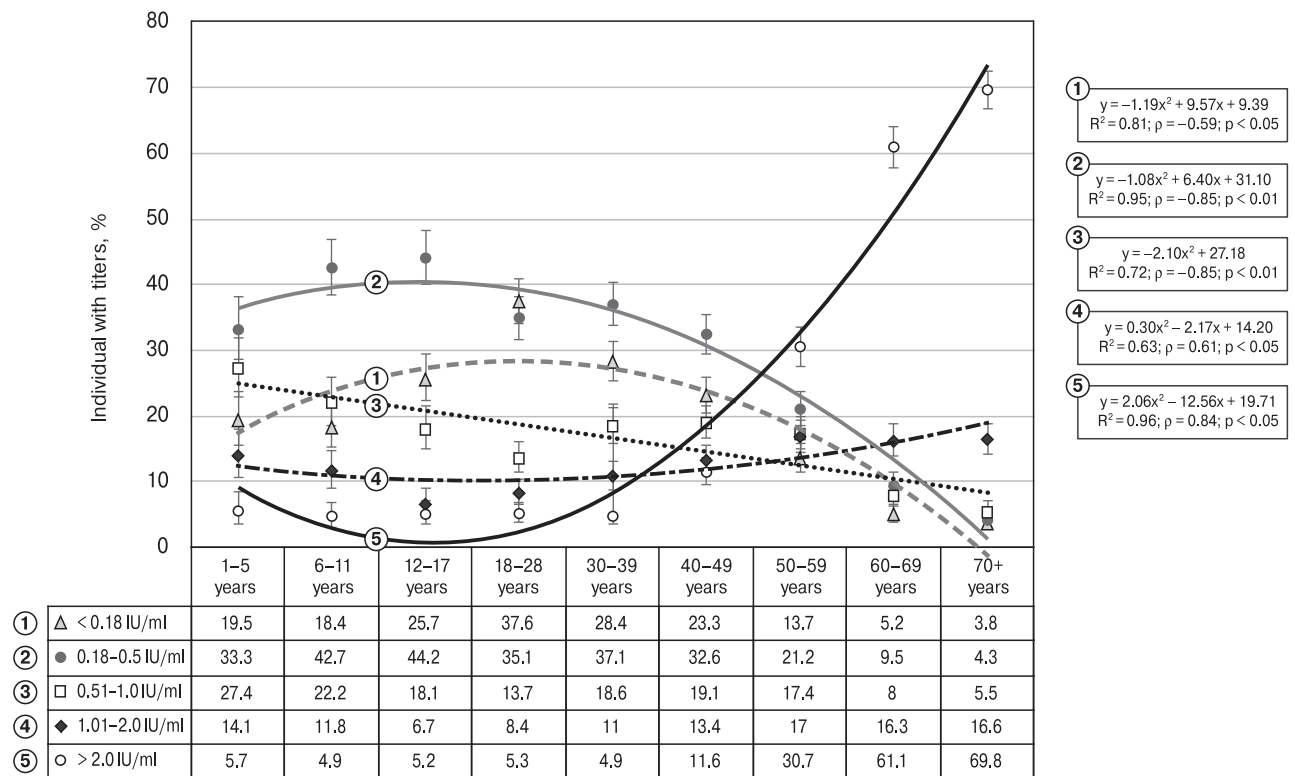


Figure 4. Trends in the quantitative distribution of anti-measles IgG levels by age group

Note. Numerical values are shown in the upper left: regression equations; determination coefficients (R^2); Spearman correlation coefficients (ρ); p values. Quantitative Ab levels are in IU/ml. Vertical black lines are 95% confidence intervals. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 2S.

$p < 0.01$). The distributions of seropositive individuals with high (1.01–2.0 IU/ml) and very high (> 2.0 IU/ml) IgG levels are interesting. In the group with high levels, the trend changed from negative to positive, although with a low determination coefficient ($\rho = 0.61$; insignificant at $p > 0.05$). The most interesting finding was seen regarding the distribution of seropositivity with the highest anti-measles IgG levels (Fig. 5). The regression curve remained almost at the same level (4.9–5.7 IU/ml) in age groups from 1–3 years to 30–39 years, and then increased almost exponentially to 69.8% (95% CI: 66.8–72.6).

Thus, low and medium anti-measles IgG levels were predominantly detected in individuals under 50 years of age, while high Ab levels were detected in individuals aged ≥ 50 years. It can be assumed that the higher share of seropositive individuals with the maximum IgG concentration in older age groups is due to a history of manifest infection.

The surveyed cohort was heterogeneous in terms of infectious and vaccinal status. Overall, 4746 individuals provided information about a history of measles and vaccination in the questionnaire. After verification of questionnaire data against medical records, 2,628 individuals for whom reliable information was available (Supplementary Table 3S) were divided into 4 groups: “sick, never vaccinated” (SNV, $n = 105$); “sick, vaccinated” (SV, $n = 58$); “never sick, vaccinated” (NSV, $n = 2,061$); and “never sick, never

vaccinated” (NSNV, $n = 404$). It is necessary to acknowledge that such a division is somewhat arbitrary since information about vaccination was confirmed by medical records, yet a history of illness or lack thereof was not documented by most volunteers. Information on the relationship between history, the presence of measles seropositivity, and anti-measles Ab levels was of interest (Fig. 5).

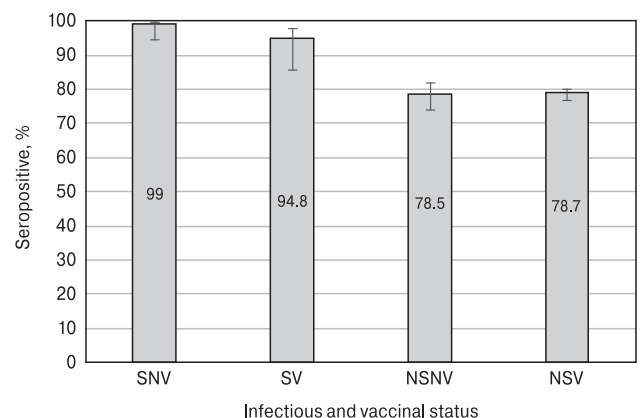


Figure 5. Measles seroprevalence by infectious and vaccinal status

Note. SNV — “sick, never vaccinated”; SV — “sick, vaccinated”; NSV — “never sick, vaccinated”; NSNV — “never sick, never vaccinated”. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 4S.

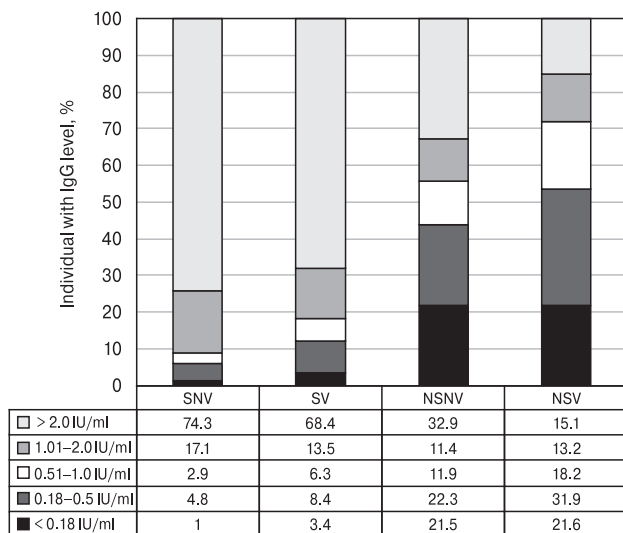


Figure 6. Anti-measles IgG levels by infectious and vaccinal status

Note. SNV — “sick, never vaccinated”; SV — “sick, vaccinated”; NSV — “never sick, vaccinated”; NSNV — “never sick, never vaccinated”. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 4S.

In the groups of volunteers who had had measles (SV, SNV), regardless of vaccinal status, seroprevalence and Ab levels were generally higher than in the groups who had not had measles (NSV, NSNV), also regardless of vaccination.

As expected, the highest share of seropositive individuals was found among volunteers who had indicated a history of illness in the questionnaire, regardless of vaccinal status (groups SNV, SV). In these groups, seroprevalence was 94.8–99.0% (Fig. 5), and the vast majority (~80%) had high Ab levels (≥ 1 IU/ml) (Fig. 6).

In the groups with no official history of measles (NSNV, NSV), seronegativity was about 22%. Seropositivity in these groups was quite high (~78%) regardless of vaccinal status, although significantly lower than the value for those with a measles history ($p < 0.001$). The share of individuals with high Ab

levels (> 1 IU/ml) was significantly lower than that of those who had had measles. Regarding high Ab level individuals: they were 44.0% among the unvaccinated (NSNV) (of which 32.9% had Abs > 2 IU/ml); and they were 22.8% among those vaccinated (NSV) (of which 10.1% had Abs > 2 IU/ml). These results are apparently explained by the structure of these two groups. Half of the volunteers in the NSNV group were over 50 years old. As shown earlier, seropositivity at this age is about 90% and higher. This indicates childhood measles infection which the volunteer did not remember, or did not know about. This is understandable, especially if the illness was mild. In any case, if infection occurred, then post-infectious immunity was formed, which is usually accompanied by high Ab levels. Unvaccinated individuals have a significantly higher chance of getting measles than vaccinated people. This is confirmed by the greater share of people with high Ab levels in the unvaccinated group.

In the largest group, “never sick, vaccinated” (NSV), the majority were children and people under 60 years of age who were vaccinated according to the national schedule. They would be expected to have post-vaccination immunity. However, more than 20% of those in this group did not have anti-measles antibodies, and only 28% of volunteers had high levels.

Of the total, 2,297 volunteers were vaccinated against measles. About 40% of individuals did not have a specific vaccine name listed on their certificate. Approximately equal numbers of volunteers were vaccinated with measles vaccine (28.6%; 95% CI: 26.8–30.5) and measles-mumps vaccine (22.0%; 95% CI: 20.4–23.8). The total share of other vaccines (Priorix, M-M-R II, Vactrivor, etc.) was about 12% (Fig. 7).

Significant differences in vaccines were noted depending on volunteer age. This is likely due to the domestic availability of various vaccines used at different times (Fig. 8). Adult volunteers from 30 to 69 years old were combined into one group due to an absence of significant differences.

Most children were vaccinated with two-component (measles, mumps) or three-component (measles, mumps, rubella) vaccines. Regarding the latter, both imported (Priorix, M-M-R II) and domestic (Vactrivor) preparations have been used. The share of children vaccinated with monovalent measles vaccine was below 10%.

Most adult volunteers, especially the elderly, were vaccinated with a monovalent measles vaccine. Vaccination with it increased proportionally with age: from 29.1% (95% CI: 24.9–33.8) in the group “18–29 years old” to 47.8% (95% CI: 36.5–59.4) in the group ≥ 70 years. In adult volunteers aged 30–69 years, two- and three-component vaccines were practically not used. About 10.1% (95% CI: 7.5–13.5) of persons aged 18–29 years had been vaccinated

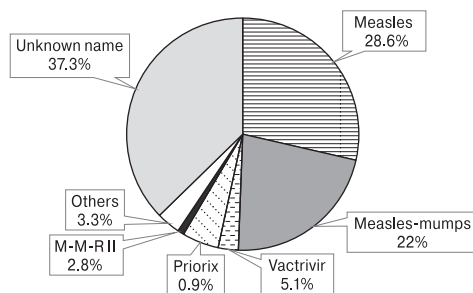


Figure 7. Structure of preparations used for measles vaccination (St. Petersburg, Leningrad Region)

Note. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 5S.

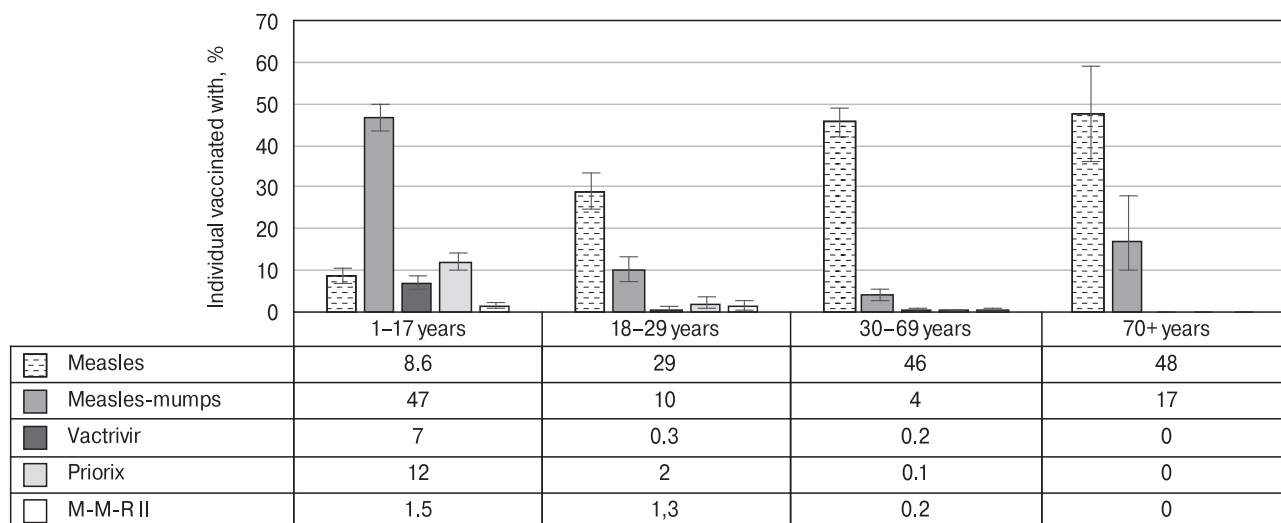


Figure 8. Preparations used for measles vaccination, by age group

Note. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 5S.

with two-component measles-mumps vaccine since 2002 (when it entered serial production). Among volunteers aged ≥ 70 years, there were also persons vaccinated with measles-mumps vaccine (17.5%; 95% CI: 10.0–28.0), probably during vaccination of the adult population during periods of increased incidence in recent years.

When summarizing measles herd immunity among local volunteers (St. Petersburg, Leningrad Region), it can be stated that the threshold level of immunity sufficient to prevent epidemic spread of the pathogen ($\leq 7\%$ seronegative individuals) has been achieved only in the age groups of 60 years and older. Among adult volunteers under 50 years of age, seroprevalence did not reach 80%. In the range 18–29 years old, the minimum values were noted (62.4%). It is noteworthy that about 20% of children who should have been vaccinated according to the national schedule did not have antibodies to the measles virus.

Herd immunity to the rubella virus

As noted earlier, the rubella situation in 2021–2022 was favorable. There were no sporadic cases, let alone epidemic outbreaks, in St. Petersburg or the Leningrad Region. Despite the fact that rubella is milder than other airborne infections (COVID-19, influenza, measles), it is a significant public health concern due to its teratogenic potential and association with autism [42]. Rubella is one of the most common infections causing fetal abnormalities (congenital rubella syndrome) in pregnant women.

The first live attenuated rubella vaccine was created by P.D. Parkman and H.M. Meyer Jr. in 1966 [48]. Inclusion of the rubella vaccine in national immunization schedules has increased vaccination coverage to 89.0% in most developed countries. Russia is no

exception, and rubella vaccination has been included in the national schedule since 1997. Routine immunization occurs at several points: children at 1 year old; children at 6 years old; and girls aged 13 years. Additional immunization is performed for children aged 1 to 17 years: who have not had rubella; who have not been vaccinated; or have been vaccinated only once. Young women 18 to 25 years old may also receive vaccination if they have not had rubella or been vaccinated previously.

The absence of rubella cases does not preclude large-scale studies of herd immunity against vaccine-preventable infections. Vigilance regarding these pathogens, including rubella, is an important prerequisite for maintaining epidemiological well-being, without setbacks, in the country. The long-term use of a live attenuated vaccine in Russia has resulted in a high level of herd immunity (95.5%; 95% CI: 94.9–95.9) in the St. Petersburg and Leningrad Region population (Fig. 9).

The highest rubella seroprevalence values were found in the subgroups of elderly (60–69 years) and older (70+ years) people. The lowest were among those middle-aged (30–39 years). Differences with the overall seroprevalence value were significant ($p < 0.05$). Despite some seroprevalence differences among various age groups, the average level of herd immunity exceeds 95%. Since the criterion for epidemic well-being regarding rubella is the detection of $\leq 7\%$ seronegative individuals, the situation in St. Petersburg and the Leningrad Region can be considered favorable. This is confirmed by the absence of rubella cases in recent years in the regions analyzed. As expected, given the high overall seroprevalence of the population, differences by field of activity were not seen. Anti-rubella IgG levels were determined in volunteers depending on age (Fig. 10).

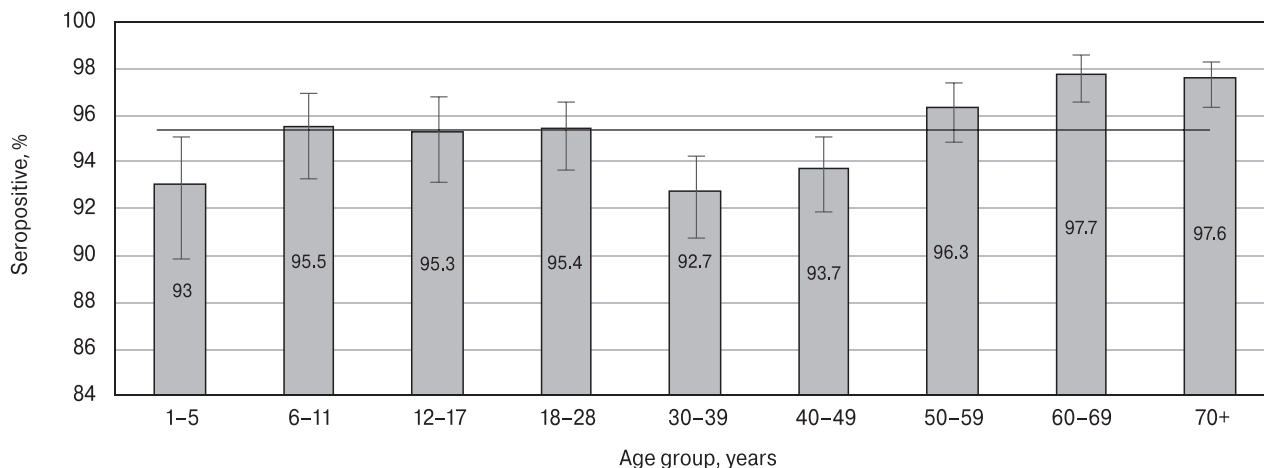


Figure 9. Rubella seroprevalence (IgG presence) by age group

Note. Vertical black lines are 95% confidence intervals; horizontal translucent stripe is the 95% confidence interval of the final value for the entire sample (95.5%; 95% CI: 94.9–95.9). Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 6S.

The data reflect a complex, heterogeneous structure regarding the distribution of anti-rubella Abs present in the population. The share of seronegative individuals and those with minimal Ab levels was distributed relatively uniformly. It was described by linear regression, with virtually no dependence on age. The trends change with higher Ab levels, requiring a more complex approximation described by 3rd de-

gree polynomials. Significant heterogeneity in the results is noteworthy, including opposing trends describing certain Ab concentration distributions: 25–100 IU/ml (average) and > 200 IU/ml (maximum).

Within the age intervals 6–11 years and 12–17 years, an increase in average Ab levels, and a decrease in maximum levels, are observed. In the range 18–29 years, there is a turning point in trends.

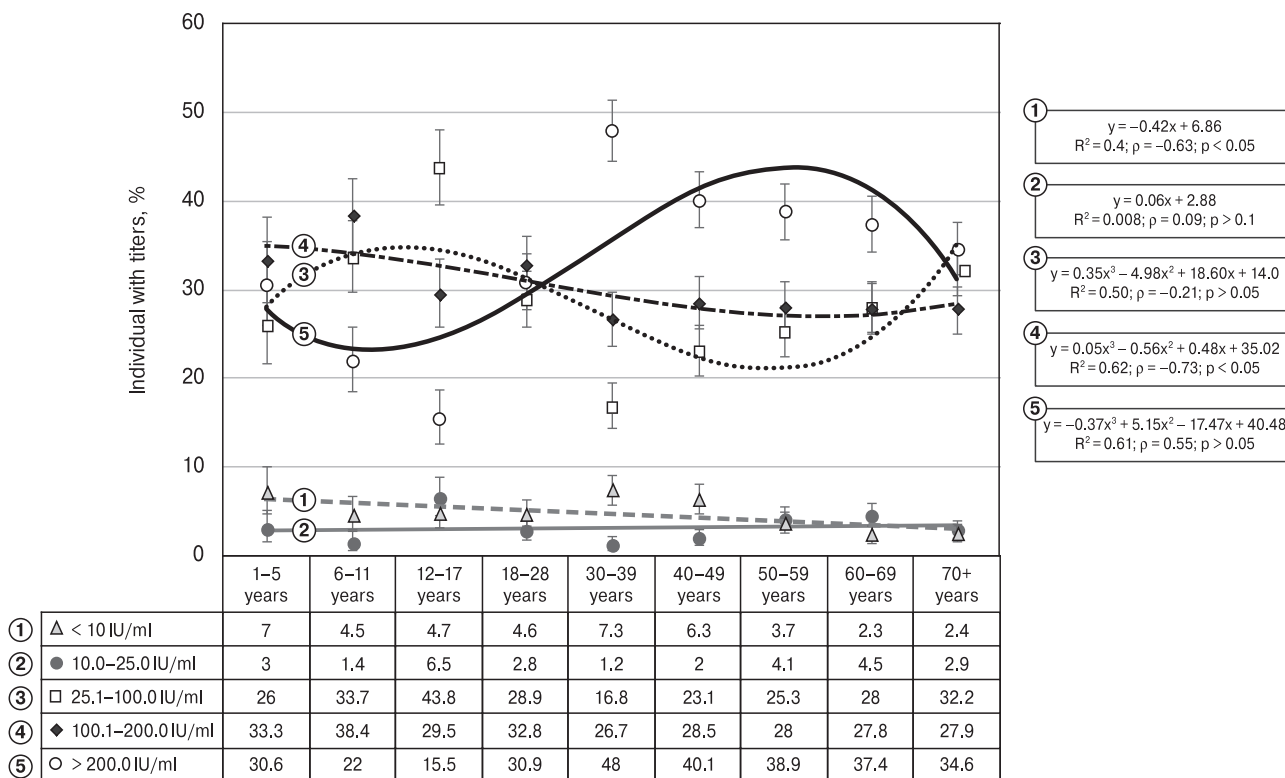


Figure 10. Trends in the quantitative distribution of anti-rubella IgG levels by age group

Note. Numerical values are shown in the upper left: regression equations; determination coefficients (R^2); Spearman correlation coefficients (ρ); p values. Quantitative Ab levels are in IU/ml. Vertical black lines are 95% confidence intervals. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 7S.

By the age range 50–59 years, the largest share of volunteers had Abs at maximum levels, and a statistically significant proportion of seropositive individuals had only average levels. Considering that for both trends the determination coefficient varies within a range (0.5–0.61), it can be considered that this form of regression is not random. It likely reflects real processes, and statistically significant features, of the quantitative Ab distribution.

Among volunteers of all age groups, the shares of individuals with medium, high, or very high Ab levels were distributed evenly. No more than 7% of volunteers had low Ab levels (10–25 IU/ml). Nevertheless, in children from 6 to 17 years old, high IgG levels were detected significantly less often than in children 1–5 years old or adults ≥ 18 years.

As with measles, those volunteers (4219 people) who provided information about their illness and vaccination in the questionnaire were divided into four groups (Suppl. Table 8S). Depending on infectious and vaccinal status after verification of their questionnaire data against medical records (2302 people), these were: SNV ($n = 180$); SV ($n = 43$); NSNV ($n = 813$); and NSV ($n = 1266$).

The age distribution of volunteers by infectious and vaccinal status is related to the national schedule, which has included rubella vaccination since 1998. In this regard, only people under 25 years of age were routinely vaccinated against rubella. People over 25 years of age, primarily women, may have received unscheduled vaccination based on epidemiological indications. It can be assumed that the groups of those who have had the disease (SNV, SV) should be mostly represented by people aged ≥ 30 years. The NSV group is most likely to be children and young people (18–29 years old). The NSNV group is volunteers of different ages who were not vaccinated, either due to medical exemptions, refusal (children and adults < 25 years), or because of age (people > 25 years). Such a classification is largely arbitrary since the actual number of people who have had rubella may be higher due to the prevalence of mild and asymptomatic cases. Furthermore, people of any age may have received rubella vaccination based epidemiological measures, especially women, for whom the presence of rubella constitutes a risk of developing pre- and postnatal lesions in newborns [27, 33, 42].

Given the high overall rubella seroprevalence in the cohort (95.5%), and its uniform distribution across age groups, one would not expect to find significant differences in seroprevalence in volunteers of different infectious and vaccinal status (Fig. 11, 12).

Although significant differences were not found between groups, seroprevalence exceeded 95% among volunteers who had experienced rubella or were vaccinated (SNV, SV, NSV), which is higher than the value for those who denied a history of vaccination or illness (NSNV, 88.6%). As with measles,

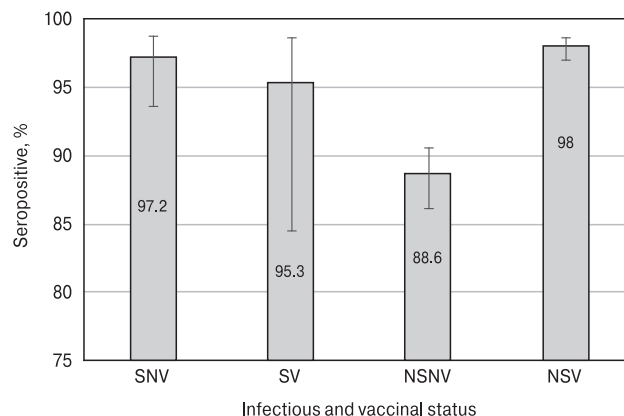


Figure 11. Rubella seroprevalence by infectious and vaccinal status

Note. SNV — “sick, never vaccinated”; SV — “sick, vaccinated”; NSV — “never sick, vaccinated”; NSNV — “never sick, never vaccinated”. Vertical black bars are 95% confidence intervals. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 9S.

the vast majority of volunteers who had had the disease ($> 80\%$) had high IgG levels (> 100 IU/ml), including about 60% with levels higher than 200 IU/ml.

Despite the absence of a history (disease and/or vaccination) among NSNV, the share of those with high antibody levels was also high, reaching almost 89%. This fact indicates that the share of people who had actually experienced rubella is undoubtedly higher due to the prevalence of mild or asymptomatic cases, which nevertheless leave a trace in the form of circulating IgG [16]. Furthermore, among volun-

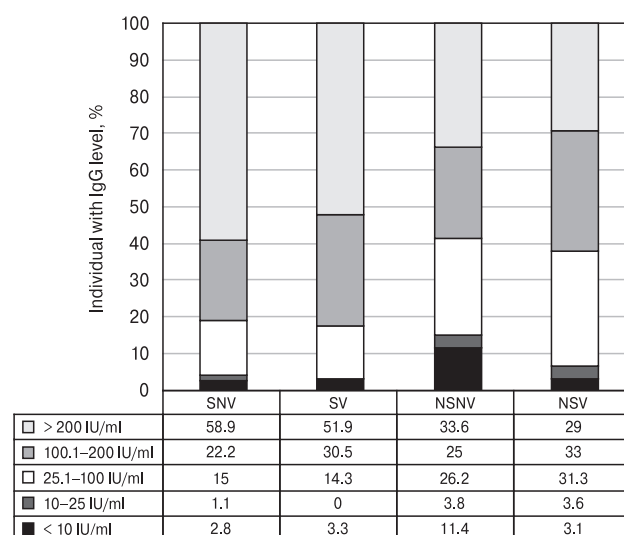


Figure 12. Anti-rubella IgG levels by infectious and vaccinal status

Note. SNV — “sick, never vaccinated”; SV — “sick, vaccinated”; NSV — “never sick, vaccinated”; NSNV — “never sick, never vaccinated”. Numerical values and statistical significance indicators are presented in Supplementary Table 9S.

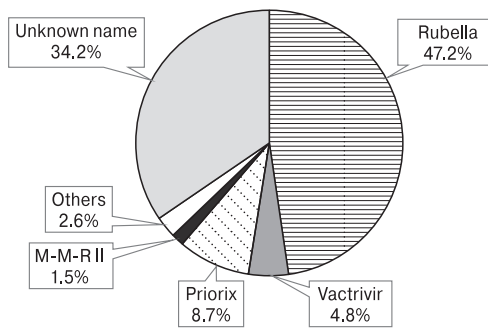


Figure 13. Structure of preparations used for rubella vaccination

Note. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 10S.

teers who had not had rubella, Ab levels were lower than in those who had been ill: IgG exceeded 100 IU/ml in almost 60%, including about 30% with a value higher than 200 IU/ml (Fig. 12).

Of the total cohort, only 1,368 volunteers provided medical documentation with information on rubella vaccination. Vaccine name was not indicated in the vaccination certificates of 37.7% of people (Fig. 13). Most volunteers were vaccinated with a domestic monovalent rubella vaccine: 47.2% (95% CI: 44.6–49.9). The usage share of three-component imported and domestic vaccines ranged from 1.5% (M-M-R II) to 8.7% (Priorix).

Age differences were noted regarding vaccines used for rubella vaccination. These are likely associated with the availability of specific vaccines in different time periods (Fig. 14). Adult volunteers aged 30–49 years were combined into one group due to an absence of significant differences.

Most volunteers in all age groups were vaccinated with domestic monovalent rubella vaccine. The three-component Vactrивir (measles, mumps, rubella) vaccine has been used in Russia since 2019 as part of the national vaccination schedule. Hence, the maximum share of those vaccinated with Vactrивir was noted among children aged 1–5 years (22.4%; 95% CI: 17.4–28.5). In other age groups, it was apparently used for one-time revaccination in older children, as well as vaccination according to epidemiological indications in adults aged 50–69 years. The imported three-component vaccine Priorix was used for routine vaccination and revaccination of children, as well as vaccination of adults according to epidemiological indications, during the periods when it was available in Russia.

Thus, the conducted serological studies (Ab presence, levels) revealed a high level of herd immunity, indicating that conditions in the region (St. Petersburg, Leningrad Region) are close to the threshold beyond which the rubella virus in the population is completely eliminated.

Herd immunity to the mumps virus

Mumps can be accompanied by numerous complications, the most common of which is orchitis [62, 69, 71]. Less often, meningitis, nephritis, polyneuropathy, pancreatitis, deafness, and other problems, can occur [25, 45, 60, 71]. The infection contributes to the formation of persistent immunity. In Russia, planned vaccination of children (at the age of 12 months) began in 1980. In 2001, mandatory revaccination of children at 6 years of age was introduced. Accordingly, volunteers younger than about 45 years were subject to scheduled mumps vaccination.

Our data shows that the overall seroprevalence in the local volunteer cohort (St. Petersburg,

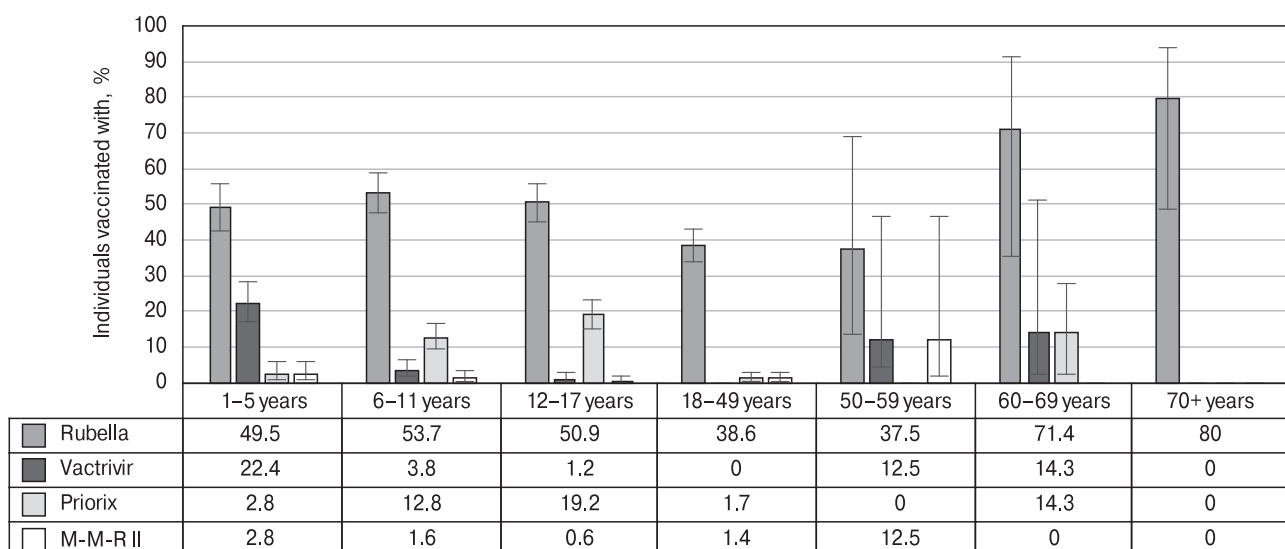


Figure 14. Preparations used for rubella vaccination, by age group

Note. Vertical black lines are 95% confidence intervals. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 10S.

Leningrad Region) was 78.4% (95% CI: 77.4–79.3) in September 2023 (Fig. 15). Considering that the share of seronegative individuals should not exceed 15% to ensure epidemiological well-being regarding mumps, it is obvious that the level of herd immunity is insufficient to prevent the spread of infection in the surveyed areas.

The distribution of mumps seroprevalence showed statistically significant age differences relative to the average cohort value. A significantly higher ($p \leq 0.01$) share of seropositive individuals was observed in children aged 6–11 years (probably after revaccination at 6–7 years), as well as in the older groups (≥ 60 years) (likely post-infectious immunity in unvaccinated individuals). In contrast, among young adult and middle-aged volunteers (18–49 years), there was significantly lower seroprevalence ($p \leq 0.0001$). This fact is to be expected since this interval includes those vaccinated once at the age of 1 year (since 1980) before the introduction of revaccination (in 2001).

The distribution of seroprevalence depending on occupation was consistent with the age distribution. The highest values (~86%) were found among schoolchildren and pensioners (children, elderly). The lowest (~70%) were among medical workers, civil servants, and transportation workers (those middle-aged). In all cases, the differences were significant at $p \leq 0.05$. For participants who provided information about illness and vaccination by questionnaire ($n = 4527$), data were verified against medical records when possible (Supplement Table 12S). Those with documented infectious and vaccinal status ($n = 2346$) were divided into four groups: SNV ($n = 111$); SV ($n = 25$); NSNV ($n = 708$); and NSV ($n = 1502$).

As with other vaccine-preventable infections, the groups with volunteers who had experienced symptomatic mumps were represented mainly by adults over 30 years of age. Some of the volunteers who had had the illness were also vaccinated, likely

due to epidemiological measures. The NSV group was represented mainly by children and young people under 30 years of age. This is obviously related to the initiation of mumps vaccination in Russia. Older people would have been vaccinated for epidemiological reasons or in accordance with specific regional vaccination programs.

When comparing mumps seroprevalence among volunteers with different infectious and vaccinal status, the highest share of seropositive individuals was observed in the groups who had experienced symptomatic mumps (regardless of vaccination): SNV group — 91.0% (95% CI: 84.2–95.0); and SV group — 92% (95% CI: 75.0–97.8). Seroprevalence among volunteers who indicated no history of mumps (regardless of vaccination) was lower: NSV group — 80.2% (95% CI: 78.1–82.2); and NSNV group — 73.9% (95% CI: 70.5–77.0) (Fig. 16). It is noteworthy that volunteers who denied a history of illness or vaccination, were nevertheless mostly seropositive for anti-mumps antibodies.

Medical documentation with information on mumps vaccination was provided by 1583 volunteers. However, it was impossible to determine official vaccine name in 37.8% of cases (Fig. 17). Most were vaccinated with domestic vaccines: a two-component measles-mumps vaccine (31.5%; 95% CI: 29.3–33.9); a monovalent mumps vaccine (17.9%; 95% CI: 16.1–19.9); and/or the three-component Vactrivar vaccine (4.1%; 95% CI: 3.2–5.2). The share of the two imported, three-component (measles, mumps, rubella) vaccines (Priorix, M-M-R II) did not exceed 9%.

Age differences regarding vaccines used for mumps vaccination were noted. These are likely related to the availability of specific vaccines in different time periods (Fig. 18). Adult volunteers aged 30–49 and 50–69 years were combined due to an absence of significant differences.

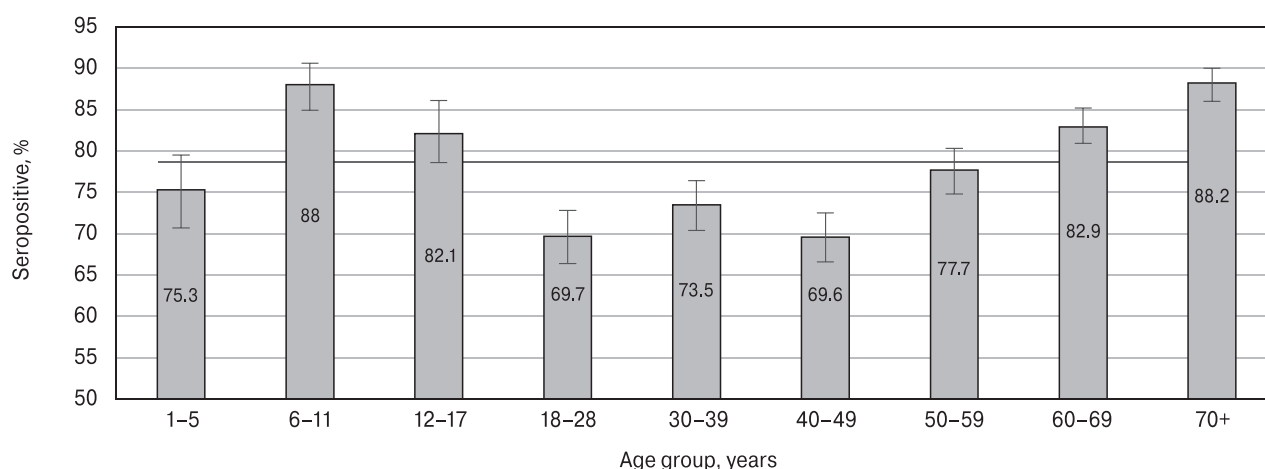


Figure 15. Mumps seroprevalence, by age group

Note. Vertical black lines are 95% confidence intervals; horizontal translucent bar is the 95% confidence interval of the final value for the entire sample (78.4%; 95% CI: 77.4–79.3). Numerical values and statistical significance indicators are presented in Supplementary Table 11S.

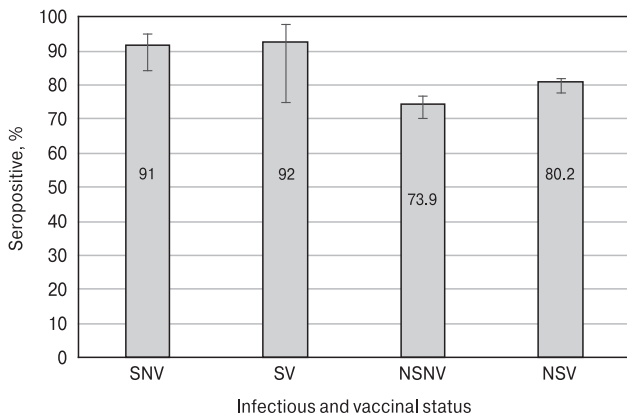


Figure 16. Mumps seroprevalence by infectious and vaccinal status

Note. SNV — “sick, never vaccinated”; SV — “sick, vaccinated”; NSV — “never sick, vaccinated”; NSNV — “never sick, never vaccinated”. Vertical black lines are 95% confidence intervals.

Most child volunteers (45.7–50.5%), as well as those over 70 years old (81.3%; 95% CI: 57.0–93.4), were vaccinated with the measles-mumps vaccine. The new domestic three-component vaccine Vactrivor, introduced into practice in 2019, was used to vaccinate children aged 1–5 years (22.4%; 95% CI 17.3–28.5) and 6–11 years (3.8%; 95% CI 2.2–6.5%). In other age groups, only a few such vaccinated individuals were noted. In contrast, those aged 18 to 69 years were vaccinated with monovalent mumps vaccine (25.2–48.2%) or, to a lesser extent, mumps-measles vaccine (5.8–32.1%). Regarding imported, three-component vaccines, Priorix was used in cer-

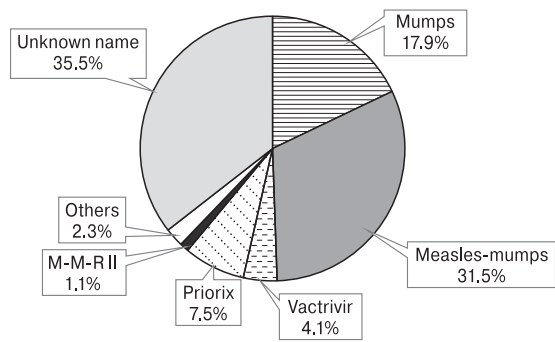


Figure 17. Structure of preparations used for mumps vaccination

tain young groups (6–11 years, 12–17 years). M-M-R II was used in isolated cases in different age groups.

When summarizing our analysis of herd immunity to mumps, we note that seroprevalence in the local population is close to the threshold for epidemiological well-being ($\leq 15\%$ seronegative individuals) only for certain groups: children aged 6–17 years and individuals in the oldest groups (≥ 60 years).

In the volunteer cohort, a separate group consisted of “naive” individuals who denied a history of illness or vaccination. They presumably should have had neither post-infectious, nor post-vaccination, immunity. Nevertheless, for all infections analyzed, high seroprevalence was found among those in the NSNV (never sick, never vaccinated) group: measles virus — 78.5% (95% CI: 74.2–82.2); mumps virus — 73.9% (95% CI: 70.5–77.0); and rubella virus — 88.6% (95% CI: 86.2–90.6).

Age analysis showed that seroprevalence for all infections was minimal in children aged 1–5 years

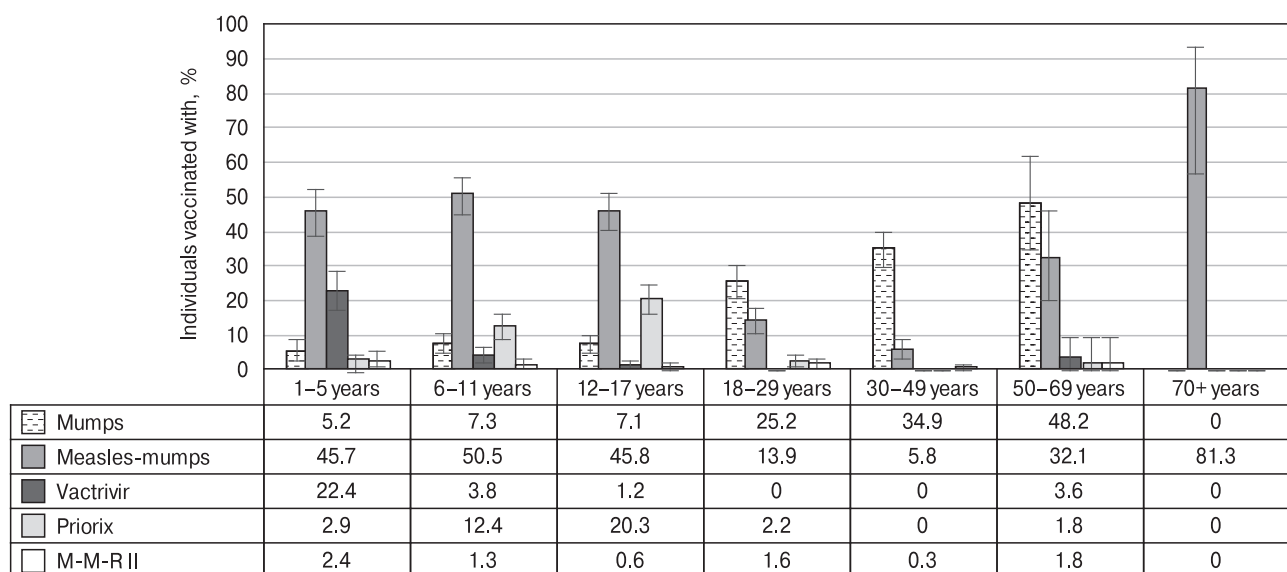


Figure 18. Preparations used for mumps vaccination, by age group

Note. Vertical black lines are 95% confidence intervals. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 13S.

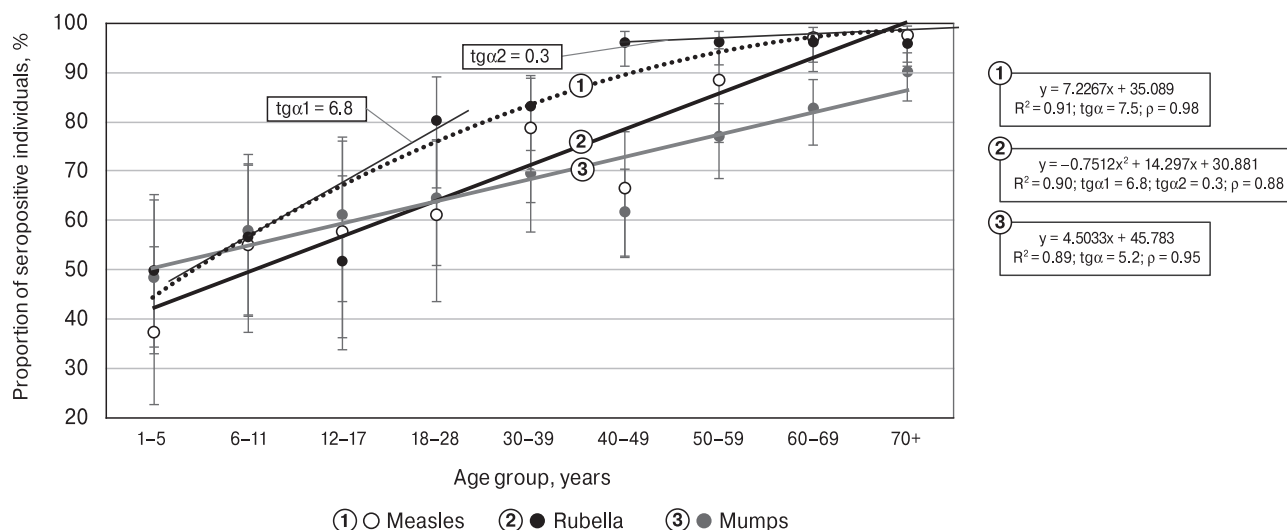


Figure 19. Seroprevalence among “naive” volunteers (never sick, never vaccinated) for vaccine-preventable infectious pathogens

Note. Since the rubella trendline was described by a 2nd degree polynomial, tangents to the curve were calculated for the youngest and oldest categories: $tg\alpha_1$ — slope of the youngest interval (aged 1–11 years), representing rate-of-increase in seropositivity in children; and $tg\alpha_2$ — slope of the oldest interval (aged ≥ 60 years). Trends for measles and mumps were straight lines. As such, their $tg\alpha$ values reflect evenly increasing seropositivity across age groups. Spearman correlation coefficients (ρ) are shown. For statistical significance, all at $p < 0.05$. Numerical values and statistical significance indicators are given in Supplementary Table 14S.

(37.5% for measles, 48.6% for mumps and 50.0% for rubella), with an increase to maximum levels in individuals aged ≥ 70 years (90.3% for mumps, 96.0% for rubella and 97.7% for measles) (Fig. 19). Setting aside that some volunteers, or their parents, may have forgotten illness or vaccination, one aspect becomes apparent. The revealed seroprevalence values indicate insufficient laboratory diagnostics of vaccine-preventable infections. In reality, older volunteers had not only experienced “childhood” infections, they also had likely received a natural booster effect through encounters with infected individuals. This is confirmed by the fact that Ab levels were higher in older age groups than in children.

It is obvious that the dependence in this case is not linear, and the trend can be described by two tangents. The first is $tg\alpha_1 = 6.8$ (steeper), wherein the level of herd immunity is growing at a high rate due to an active transmission process. Adaptive immunity is quickly formed (via childhood immunization or transmission). The second is $tg\alpha_2 = 0.3$, wherein all (or almost all) of those in the oldest groups (> 60 years) have already encountered the virus in their lives through vaccination or illness. In result, the virus practically does not spread in this age group.

Discussion

Herd immunity is the central mechanism for protecting the population from contagious infectious pathogens that tend to spread as epidemics. These include airborne infections, often in childhood (mea-

sles, mumps, rubella, diphtheria, whooping cough), as well as acute respiratory viral infections that are not strongly age-specific (influenza, parainfluenza, respiratory syncytial virus, coronaviruses, etc.) [31, 39, 44, 46, 63, 66]. It is also worth mentioning that a number of infections have virtually disappeared in recent times, yet caused a number of deadly epidemics in the Middle Ages [1, 64]. The outcome of all these pandemics was the formation of specific immunity to the pathogen. This process is based on the ability of cellular and humoral mechanisms to block the transmission of pathogens among the population, wherein the prevalence of positive serological results (ρ) exceeds the critical value of herd immunity (ρ_c), known as the herd immunity threshold [43, 51, 70]. According to researchers, achieving this threshold is realistic (at least for measles, mumps, and rubella) provided that vaccination of different population segments is properly organized [51, 67].

The measles virus is a highly contagious pathogen, the basic reproduction number (R_0) for which is 9–18 [61]. This means that the target vaccination coverage to achieve the protective immunization threshold should be about 95% [29]. The criterion for epidemic well-being regarding measles is the presence of no more than 7% seronegative individuals in the population. Our results show that in St. Petersburg and the Leningrad Region, the measles seroprevalence in the cohort as a whole was 81.4% (95% CI: 80.4–82.3), which is significantly below the threshold. We also note statistically significant heterogeneity in the cohort: the lowest seropreva-

lence was found among individuals aged 18–39 years (62.4%; 95% CI: 59.0–65.7); and the highest was among those aged ≥ 70 years (96.2%; 95% CI: 94.8–97.2). Similar heterogeneity was found in volunteers depending on field of activity. Higher seroprevalence was noted among pensioners and preschoolers (which corresponds to the age distribution). It was also noted in health workers and educators, both of which are “at risk” groups. Since 2014, they are subject to vaccination until the age of 55 under certain conditions (no history of vaccination or illness) [12, 13].

High anti-measles Ab levels are most typical for older individuals: about 80% of seropositive individuals aged ≥ 60 years had high (1–2 IU/ml), or very high (> 2 IU/ml), IgG levels. The opposite situation was noted in the group “children aged 1–17 years”: the overwhelming majority had low or medium Ab levels (0.18–1.0 IU/ml).

Analysis of volunteer histories (measles vaccination, past illness) showed that seroprevalence was mainly influenced by past illness, not vaccination. Among those who had had measles, seroprevalence and Ab levels were higher than among those who had not, regardless of vaccination. Our data on local herd immunity (St. Petersburg, Leningrad Region) are consistent with earlier data from other seroepidemiological studies conducted in various Russian regions. They also noted low measles seroprevalence in children and in adults aged 18–40 years [4, 9, 10, 11, 17, 18].

It can be assumed that the revealed differences are due to a number of medical and social factors. Mandatory single vaccination of children with a live measles vaccine at the age of 1 year was launched in the USSR in 1968. In 1986, revaccination of children before entering school (at the age of 6 or 7 years) was introduced. Thus, subjects who have undergone a full course of measles vaccination within the framework of the national schedule (vaccination, revaccination) can be classified fairly reliably as persons under 40 years of age. Persons aged 40–55 years were most likely vaccinated once. Those over 55 would have been vaccinated only according to epidemiological indications. Interestingly, starting from the age of 50, the share of measles-seropositive persons with high Ab levels steadily increases.

There is no doubt that in the period preceding the introduction of mandatory vaccination, measles incidence was high, and people over 50 years of age were highly likely to have had this infection. The higher seroprevalence in groups over 50 years of age, as well as high Ab levels, indicate a long-term and even lifelong existence of anti-infective immunity. It is believed that the measles vaccination coverage among the adult population aged 18–35 is maintained at the regulated level and is about 99% in Russia [12, 13]. Our data indicate that the real seroprevalence of the population at this age is 60–70%. Data from Russian authors indicate that during periods of increased measles incidence, people in age groups with a low herd

immunity are primarily involved in the epidemic process [18]. Also noteworthy is the high share of seronegative individuals among children (18.4–25.7%). Data from official registrations and individual researchers confirm the involvement of unvaccinated individuals in the epidemic process: no more than 5–7% of those infected are vaccinated against measles [3, 21].

Thus, our results confirm the fact that individuals who have had manifest measles (usually older people) have higher immune protection than after vaccination [54]. In addition, older individuals in conditions of high measles incidence in the pre-vaccination period probably encountered the pathogen repeatedly, which strengthened post-infectious immunity (booster effect) and ensured high Ab levels. The immune response formed following the measles vaccine is lower. In addition, the probability of a natural booster effect in vaccinated individuals in conditions of reduced circulation of wild virus is low. This is confirmed by low Ab levels in seropositive young individuals [35].

Rubella, like measles, is a vaccine-preventable infection and, despite the existence of a family of specific vaccines, continues to cause up to 100 000 cases of congenital rubella syndrome worldwide annually [39, 42, 59]. Its basic reproduction number varies from 3–8, potentially up to 12 [49, 56]. It follows that the required threshold of herd immunity in European countries is estimated to be 67–87%, while in developing countries it can reach 90% [39, 51, 52]. Live attenuated MMR vaccine is used worldwide for specific prevention of rubella; it is capable of generating adaptive immunity simultaneously to three pathogens: measles, mumps, and rubella [58].

Rubella immunization in Russia was introduced into the schedule by an order of the Ministry of Health (dated 27.12.97, No. 375), later replaced by a subsequent order (dated 30.09.2015, No. 683H). Accordingly, children are subject to routine immunization at specific points: those aged 12 months; 6 years; and girls aged 13 years. Additional rubella immunization includes: all children from 1 to 17 years who have not been ill, not been vaccinated, or vaccinated only once; as well as young women aged 18–25 years who have not been ill or vaccinated previously [14].

An assessment of rubella herd immunity showed that the overall cohort had the necessary immune protection, regardless of age or occupation. The average rubella seroprevalence was 95.5% (95% CI: 94.9–95.9). The highest level was recorded among volunteers aged 50–70+ years (96.3–97.6%). The lowest was in the age group 30–39 years (92.7%; 95% CI: 90.8–94.3). In other words, the level of herd immunity reached the threshold for epidemic well-being ($\leq 7\%$ seronegative individuals in the pop.) in almost all age groups. This is confirmed by the absence of registered cases of rubella, or congenital rubella syndrome, in 2021–2023 locally (St. Petersburg, Leningrad Region).

Unlike measles, 60–70% of volunteers had high, or very high, anti-rubella IgG levels, and the share of individuals with low Ab levels did not exceed 7%. However, in children aged 6–17 years, high IgG levels were detected significantly less frequently than in children aged 1–5 years or adults. This situation, noted by other authors [20], may be associated with a weakening of immunity 6–10 years after revaccination in the absence of a natural booster effect when encountering wild rubella virus. It is interesting to note that in the group of volunteers who had not been ill or vaccinated against rubella, the share of seropositive individuals was high, 88.6% (95% CI: 86.2–90.7), although significantly lower than in the groups of those who had been ill and vaccinated. In addition, those with full recoveries from symptomatic infections had higher Ab levels. Specifically, in 50–60% of such volunteers, IgG levels exceeded 200 IU/ml, as opposed to 29–33% of those who without a history of manifest rubella.

When summarizing the assessment of herd rubella immunity in the local population (St. Petersburg, Leningrad Region), as well as the data of other domestic authors [7, 9, 11, 17, 18, 20], it is obvious that the existing practice of routine vaccination has contributed to the formation of herd immunity sufficient to interrupt viral spread.

This is reflected in the absence of manifest cases in recent years. Clearly, a high level of herd immunity has been maintained, even in the absence of circulation of the wild strain or natural booster effects through encounters. It is premature, of course, to declare a complete victory over rubella, and the possibility of imported cases cannot be ruled out. However, the risk of epidemic spread among local residents can currently be considered low.

In uncomplicated cases, mumps occurs as a mild, self-limiting infection, but there are also complicated cases with the addition of orchitis in boys, as well as pancreatitis and even neurological complications [60, 69, 72, 73]. The mumps virus is less contagious than the measles virus. Values for the basic reproductive number, depending on regional characteristics, can vary from 4–7 (USA) to 11–14 (Great Britain) [36]. Before the introduction of mass vaccination, illness was widespread globally. In some countries, up to 5–6% of the population has experienced symptomatic forms [22]. A significant change in the epidemiological situation occurred only after the introduction of specific vaccination into clinical practice in 1967. This has enabled a many-fold reduction in mumps prevalence globally [6, 37].

Contemporary mumps epidemiology and its features have been shaped by routine prevention using a live attenuated vaccine. The introduction of vaccines against the virus in Russia has contributed to a decrease in the frequency of clinical mumps cases, primarily due to the formation of strong herd immunity [6]. In Russia, two domestic vaccines based

on the Leningrad-3 strain are used: a monovalent mumps vaccine and a divalent (mumps-measles) vaccine. Two imported trivalent (measles, mumps, rubella) vaccines, M-M-R II and Priorix, are also used. Regardless of their origin, all of the listed vaccines create 90% immunity, which lasts up to 5–6 years after administration [16, 19, 24, 32]. The vaccination program against mumps in Russia has undergone changes, which obviously has affected seroprevalence in various age groups. Routine vaccination of the child population (at the age of 12 months) began in 1980. In the year 2000, the attenuated mumps virus content in the vaccine was increased by 2-fold. In 2001, due to an identified decrease in immunity, mandatory booster revaccination of children at 6 years of age (before school) was introduced into the national vaccination schedule.

Taking into account that the average value of the basic reproductive number (R_0) varies within 4.5, it is possible to calculate the threshold level of mumps herd immunity (R_i), which was 77.7%, using the formula $(1 - (1/R_0) \times 100)$. In St. Petersburg and the Leningrad Region, the average cohort value of R_i was 78.4% (95% CI: 77.4–79.3). The highest R_i values were noted among children aged 6–11 years (88.0%; 95% CI: 84.9–90.6) and those ≥ 50 years (88.2%; 95% CI: 86.0–90.0); differences with the average cohort value were significant ($p < 0.001$). The least protected were middle-aged adults aged 18–49 years, among whom seronegativity reached 30%. They were likely vaccinated once before the introduction of revaccination in 2001.

The distribution of mumps seroprevalence by field of activity corresponded with age. The highest seropositivity values were found among schoolchildren and pensioners (children and the elderly). The lowest was among medical workers, civil servants, and transportation workers (middle-aged people). In all cases, the differences were significant ($p \leq 0.05$). As with other vaccine-preventable infections, analysis of infectious history and vaccinal status showed that the highest share of seropositive individuals was noted in groups of volunteers who had experienced symptomatic mumps, regardless of vaccination: 87.6–91.0%.

Thus, the threshold for epidemic well-being with respect to mumps ($\leq 15\%$ seronegative individuals) corresponded to the level of herd immunity only among children aged 6–17 years and those > 60 years. The rest of the population, including preschool children and adults aged 18 to 59, are not sufficiently protected from mumps. As such, they can be involved in epidemiological processes.

Analysis of volunteer groups who cannot document, or recall, a history of vaccination or illness (i.e., should not have had significant humoral immunity) shows that there has been insufficient laboratory diagnostics of vaccine-preventable infections. Latent and asymptomatic forms (measles, mumps, rubella) have very likely been overlooked in the past. Seropositivity for these pathogens was noted in all age groups. It in-

creased with age, reaching maximum levels in those aged 70+ (90.3% for mumps, 96.0% for rubella and 97.7% for measles). Many of the older adult volunteers were born in, or have lived through, the pre-vaccination period. Many have had these “childhood” infections, as well as the opportunity to receive a natural “booster effect” in conditions of high morbidity (through contact with infected individuals).

In Russia, live attenuated vaccines are used for specific prevention of these pathogens in the form of monovalent, two-component (measles, mumps), and three-component preparations (measles, mumps, rubella). All available vaccines are safe, effective, and can be equally used within the framework of immunization programs. However, the general trend in vaccination development globally has been a transition to combination vaccines with an increasing number of components. In 2019, the first domestic three-component vaccine, Vactrивir (measles, mumps, rubella) [19], was registered in Russia. Earlier, the foreign vaccines Priorix and M-M-R II were used as three-component vaccines. Multicomponent vaccines are predominantly used for routine vaccination of children. Monovalent vaccines are used for vaccination (and revaccination) of adults according to epidemiological indications, depending on which pathogen is of public health concern.

Conclusions

1. Currently, herd immunity to “childhood” infections in the local population (St. Petersburg, Leningrad Region) ensures epidemiological well-being only with respect to rubella. This is confirmed by

the long-term absence of cases of acute infection or congenital rubella. An unfavorable situation is noted with the level of herd immunity to measles and mumps, which corresponds to the situation noted in other Russian regions.

2. The highest share of susceptible individuals was found among young and middle-aged groups. These volunteers typically: have not experienced symptomatic cases of these infections; were vaccinated according to an incompletely established vaccination schedule; and have not experienced a natural booster effect (due to reduced circulation of wild viral strains). The aforementioned factors contribute to a fading of post-vaccination immunity.

3. The least susceptible to these “childhood” illnesses are individuals over 50 years of age who have experienced infection (symptomatically or asymptotically). They have developed post-infectious immunity (with high Ab levels) and also received a natural booster effect in the pre-vaccination period in conditions of high morbidity.

4. The situation with post-vaccination immunity to measles requires additional analysis. Seroprevalence levels in certain age groups, including children, are insufficient to ensure epidemiological well-being. Currently, outbreaks associated with imported cases of infection are being registered in Russian regions, with subsequent formation of foci among unvaccinated residents.

Supplementary materials

Supplement tables are available at: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-HIT-17797>.

References

1. Беляков Н.А., Трофимова Т.Н., Кулагина Е.Н., Митюрин Д.В., Соколов А.Р., Тучапский А.К., Фирсов В.В., Шелаев Ю.Б., Шелаева Е.П. По следам мировых эпидемий. От юстиниановой чумы до новой коронавирусной инфекции. СПб.: Лики. 2021. 296 с. [Belyakov N.A., Trofimova T.N., Kulagina E.N., Mityurin D.V., Sokolov A.R., Tuchapskii A.K., Firsov V.V., Shelaev Yu.B., Shelaeva E.P. In the footsteps of the world's epidemics. From Justinian plague to a new coronavirus infection. *St. Petersburg: Liki, 2021. 296 p. (In Russ.)*]
2. Бинятова А.С., Унасова Т.Н., Илиасова Т.Н., Саркисян К.А., Фадейкина О.В., Мовсесянц А.А. Анализ качества комбинированной отечественной вакцины для профилактики кори, краснухи и эпидемического паротита // Вопросы вирусологии. 2022. Т. 67, № 5. С. 414–422. [Binyatova A.S., Unasova T.N., Iliasova T.N., Sargsyan K.A., Fadeikina O.V., Movsesyants A.A. Analysis of the quality of a combined domestic vaccine for the prevention of measles, rubella and mumps. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, 2022, vol. 67, no. 5, pp. 414–422. (In Russ.)*] doi: 10.36233/0507-4088-131
3. Гринчик П.Р., Намазова-Баранова Л.С., Федосеев М.В., Гирина А.А., Ковалев С.В., Мазоха А.В., Макушина Е.Д., Малинина Е.И., Мусихина А.Ю., Перминова О.А., Пленсковская Н.Ю., Привалова Т.Е., Ртищев А.Ю., Русинова Д.С., Рычкова О.А., Семериков В.В., Фоминых М.В., Фуголь Д.С., Якимова Н.В. Сравнительный анализ показателей привитости и охвата иммунизацией детского населения на территории федеральных округов Российской Федерации // Педиатрическая фармакология. 2022. Т. 19, № 1. С. 6–19. [Grinchik P.R., Namazova-Baranova L.S., Fedoseenko M.V., Girina A.A., Kovalev S.V., Mazokha A.V., Makushina E.D., Malinina E.I., Musikhina A.Y., Perminova O.A., Plenskovskaya N.Y., Privalova T.E., Rtishchev A.Y., Rusinova D.S., Rychkova O.A., Semerikov V.V., Fominykh M.V., Fugol D.S., Yakimova N.V. Comparative analysis of vaccination rates and immunization coverage of the pediatric population in Russian federal districts. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology, 2022, vol. 19, no. 1, pp. 6–19. (In Russ.)*] doi: 10.15690/pf.v18i6.2351
4. Загарьянц А.И., Яковлева И.В., Селезнева Т.С., Свиридов В.В., Белевская А.А. Длительность и напряженность поствакцинального гуморального иммунитета к вирусам кори, паротита и краснухи // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2005. № 5. С. 15–19. [Zagar'yants A.I., Yakovleva I.V., Selezneva T.S., Sviridov V.V., Belevskaya A.A. Duration and intensity of post-vaccination humoral immunity to measles, mumps and rubella viruses. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prophylaxis, 2005, no. 5, pp. 15–19. (In Russ.)*]

5. Калькуляторы Radar. [Radar-research calculators]. URL: <https://radar-research.ru/instruments/calculators> (04.29.2024)
6. Крамарь Л.В., Каплунов К.О., Ларина Т.Ю., Морозова Д.Ю. Вакцинопрофилактика коклюша: реалии и ближайшие перспективы // Лекарственный вестник. 2018. Т. 72, № 4. С. 41–47. [Kramar L.V., Kaplunov K.O., Larina T.Yu., Morozova D.Yu. Vaccination against whooping cough: realities and immediate prospects. *Lekarstvennyy vestnik = Medicinal Bulletin*, 2018, vol. 72, no. 4, pp. 41–47. (In Russ.)]
7. Лаврентьева И.Н., Бичурина М.А., Антипова А.Ю., Камара Ж., Хоанг М., Банчевич М.Д., Железнова Н.В., Егорова С.А., Тотолян А.А. Коллективный иммунитет к вирусу краснухи в некоторых географических регионах // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 5. С. 902–908. [Lavrentyeva I.N., Bichurina M.A., Antipova A.Yu., Camara J., Hoang M., Banchevich M.D., Zheleznova N.V., Egorova S.A., Totolian A.A. Herd immunity to rubella virus in several geographic regions. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 5, pp. 902–908. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-AHI-2015.
8. Медицинская статистика. [Medical Statistics]. URL: <https://medstatistic.ru> (15.04.2024)
9. Ноздрачева А.В., Грицик А.А., Кузин С.Н., Семенов Т.А. Оценка фактической восприимчивости отдельных групп декретированного населения к вирусам кори, краснухи и эпидемического паротита // Вестник РГМУ. 2017. № 5. С. 58–62. [Nozdracheva A.V., Gritsik A.A., Kuzin S.N., Semenenko T.A. Assessment of the actual susceptibility of individual groups of the decreed population to measles, rubella and mumps viruses. *Vestnik RGMU = Bulletin of RSMU*, 2017, no. 5, pp. 58–62. (In Russ.)]
10. Ноздрачева А.В., Семенов Т.А. Состояние популяционного иммунитета к кори в России: систематический обзор и метаанализ эпидемиологических исследований // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2020. Т. 97, № 5. С. 445–457. [Nozdracheva A.V., Semenenko T.A. The state of collective immunity to measles in Russia: a systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2020, vol. 97, no. 5, pp. 445–457. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-7
11. Ноздрачева А.В., Семенов Т.А., Русакова Е.В., Гусева Е.В., Иванова М.Ю., Готвянская Т.П. Состояние популяционного иммунитета к вирусам кори, краснухи и эпидемического паротита у населения Москвы в 2016–2017 гг. // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2019. Т. 9, № 2. С. 31–38. [Nozdracheva A.V., Semenenko T.A., Rusakova E.V., Guseva E.V., Ivanova M.Y., Gotvyanskaya T.P. State of collective immunity to measles, rubella and mumps viruses in the Moscow population, 2016–2017. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*, 2019, vol. 9, no. 2, pp. 31–38. (In Russ.)] doi: 10.18565/epidem.2019.9.2.31-8
12. Попова А.Ю., Тотолян А.А. Методология оценки популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 в условиях пандемии COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 4. С. 609–616. [Popova A.Yu., Totolian A.A. Methodology for assessing collective immunity to the SARS-CoV-2 virus in the context of the COVID-19 pandemic. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 4, pp. 609–616. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MFA-1770
13. Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемиологическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок: Приказ МЗ РФ от 06.12.2021 г. № 1122Н. [On approval of the national calendar of preventive vaccinations, the calendar of preventive vaccinations for epidemiological indications and the procedure for conducting preventive vaccinations: Order of the Ministry of health of the Russian Federation of December 06, 2021, No. 1122N]. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=410331> (12.06.2024)
14. Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемиологическим показаниям: Приказ МЗ РФ от 21.03.2014 года № 125Н. [About the approval of the national calendar of preventive vaccinations and the calendar of preventive vaccinations on epidemic indications: Order of the Ministry of health of the Russian Federation of March 21, 2014, No. 125n]. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=379483#10> (12.06.2024)
15. Об утверждении порядка организации и осуществления профилактики неинфекционных заболеваний и проведения мероприятий по формированию здорового образа жизни в медицинских организациях: Приказ МЗ РФ от 30.09.2015 № 683Н. [On approval of the procedure for organizing and implementing the prevention of non-communicable diseases and implementing measures to promote a healthy lifestyle in medical organizations: Order of the Ministry of health of the Russian Federation of September 30, 2015, No. 683N]. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=369340> (04.07.2024)
16. Семериков В.В., Якобчук Н.О., Софронова Л.В., Юминова Н.В., Воробьева Н.Н., Контаров Н.А. Профилактическая эффективность, безопасность, иммуногенная активность и оценка уровня поствакцинальных реакций после иммунизации комбинированной тривакциной Вактривир (корь-краснуха-паротит) детей, родившихся недоношенными // Педиатрическая фармакология. 2024. Т. 21, № 2. С. 90–101. [Semerikov V.V., Yakobyuk N.O., Sofronova L.V., Yuminova N.V., Vorobyeva N.N., Kontarov N.A. Preventive efficacy, safety, immunogenic activity and assessment of the level of post-vaccination reactions after immunization with the combined trivaccine Vactrivr (measles-rubella-mumps) of children born prematurely. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2024, vol. 21, no. 2, pp. 90–101. (In Russ.)] doi: 10.15690/pfv21i2.2744
17. Топтыгина А.П., Клыкова Т.Г., Смердова М.А., Зеткин А.Ю. Оценка напряженности популяционного иммунитета к вирусам кори, краснухи, эпидемического паротита и ветряной оспы у здоровых взрослых // Русский медицинский журнал. 2019. № 3. С. 36–39. [Toptygina A.P., Klykova T.G., Smerdova M.A., Zetkin A.Y. Assessment of the intensity of collective immunity to measles, rubella, mumps and chickenpox viruses in healthy adults. *Russkii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal*, 2019, no. 3, pp. 36–39. (In Russ.)]
18. Топтыгина А.П., Смердова М.А., Наумова М.А., Владимирова Н.П., Мамаева Т.А. Влияние особенностей популяционного иммунитета на структуру заболеваемости корью и краснухой // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 3.

- C. 341–348. [Toptygina A.P., Smerdova M.A., Naumova M.A., Vladimirova N.P., Mamaeva T.A. Influence of population immunity peculiarities on the structure of measles and rubella prevalence. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 341–348. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-341-348.
19. Фельдблюм И.В., Романенко В.В., Субботина К.А., Меньшикова М.Г., Окунева И.А., Мухихина А.Ю., Снитковская Т.Э., Маркович Н.И., Ершов А.Е., Трофимов Д.М. Безопасность и иммунологическая эффективность отечественной комбинированной тривакцины для профилактики кори, краснухи и эпидемического паротита Вактривир® при иммунизации детей 12 месяцев и 6 лет (результаты простого слепого мультицентрового сравнительного рандомизированного клинического исследования) // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2021. Т. 20, № 1. С. 32–43. [Feldblium I.V., Romanenko V.V., Subbotina K.A., Menshikova M.G., Okuneva I.A., Musikhina A.Yu., Snitkovskaya T.E., Markovich N.I., Ershov A.E., Trofimov D.M. Safety and immunological efficacy of the domestic combined trivalent vaccine for the prevention of measles, rubella and mumps Vactrivr® in immunization of children aged 12 months and 6 years (results of a single-blind multicenter comparative randomized clinical trial). *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccine Prophylaxis*, 2021, vol. 20, no. 1, pp. 32–43. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-1-32-43
 20. Цвиркун О.В., Самойлович Е.О., Тихонова Н.Т., Герасимова А.Г., Тураева Н.В., Ермолович М.А., Семейко Г.В. Сопоставление результатов исследования состояния популяционного иммунитета к вирусу краснухи у населения Республики Беларусь и Российской Федерации // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 5. С. 909–918. [Tsvirkun O.V., Samoilovich E.O., Tikhonova N.T., Gerasimova A.G., Turaeva N.V., Ermolovich M.A., Semeiko G.V. State of anti-rubella virus population immunity in the Republic of Belarus and Russian Federation. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 5, pp. 909–918. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-COT-1832
 21. Цвиркун О.В., Тихонова Н.Т., Тураева Н.В., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Герасимова А.Г. Характеристика популяционного иммунитета к кори в Российской Федерации // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2020. Т. 19, № 4. С. 6–13. [Tsvirkun O.V., Tikhonova N.T., Turaeva N.V., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Gerasimova A.G. Characteristics of population immunity to measles in the Russian Federation. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccine Prophylaxis*, 2020, vol. 19, no. 4, pp. 6–13. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-4-6-13
 22. Эпидемический паротит. Современные представления о возбудителе, клиника, диагностика, профилактика / Под ред. А.П. Агафонова. Новосибирск: ЗАО Медикобиологический Союз, 2007. 82 с. [Mumps. Modern understanding of the pathogen, clinical features, diagnostics, prevention. Ed. A.P. Agafonov. *Novosibirsk: ZAO Medikobiologicheskyy Soyuz*, 2007. 82 p. (In Russ.)]
 23. Agresti A., Coull B.A. Approximate is better than “exact” for interval estimation of binomial proportions. *Am. Stat.*, 1998, vol. 52, no. 2, pp. 119–126. doi: 10.2307/2685469
 24. Almansour I. Mumps vaccines: current challenges and future prospects. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 11: 1999. doi: 10.3389/fmicb.2020.01999
 25. Banerjee A., Suthar R., Vyas S., Singh M.P. Acute disseminated encephalomyelitis: complication of a vaccine preventable disease. *BMJ Case Rep.*, 2018, vol. 11, no. 1: e225710. doi: 10.1136/bcr-2018-225710
 26. Bankamp B., Hickman C., Icenogle J.P., Rota P.A. Successes and challenges for preventing measles, mumps and rubella by vaccination. *Curr. Opin. Virol.*, 2019, no. 34, pp. 110–116. doi: 10.1016/j.coviro.2019.01.002
 27. Bukasa A., Campbell H., Brown K., Bedford H., Ramsay M., Amirthalingam G., Tookey P. Rubella infection in pregnancy and congenital rubella in United Kingdom, 2003 to 2016. *Euro Surveill.*, 2018, vol. 23, no. 19: 17-00381. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.19.17-0038
 28. Connell A.R., Connell J., Leahy T.R., Hassan J. Mumps outbreaks in vaccinated populations — is it time to re-assess the clinical efficacy of vaccines? *Front. Immunol.*, 2020, no. 11: 2089. doi: 10.3389/fimmu.2020.02089
 29. Coughlin M.M., Beck A.S., Bankamp B., Rota P.A. Perspective on global measles epidemiology and control and the role of novel vaccination strategies. *Viruses*, 2017, vol. 9, no. 1: 11. doi: 10.3390/v9010011
 30. Dassarma B., Tripathy S., Chabalala M., Matsabisa M.G. Challenges in establishing vaccine induced herd immunity through age specific community vaccinations. *Aging Dis.*, 2022, vol. 13, no. 1, pp. 29–36. doi: 10.14336/AD.2021.0611
 31. Furuse Y., Oshitani H. Global transmission dynamics of measles in the measles elimination era. *Viruses*, 2017, vol. 9, no. 4: 82. doi: 10.3390/v9040082
 32. Galazka A.M., Robertson S.E., Kraigher A. Mumps and mumps vaccine: a global review. *Bull. World Health Organ.*, 1999, vol. 77, no. 1, p 3–14. PMC2557572
 33. George S., Viswanathan R., Sapkal G.N. Molecular aspects of the teratogenesis of rubella virus. *Biol. Res.*, 2019, no. 52: 47. doi: 10.1186/s40659-019-0254-3
 34. Gokhale D.V., Brett T.S., He B., King A.A., Rohani P. Disentangling the causes of mumps reemergence in the United States. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2023, vol. 120, no. 3: e2207595120. doi: 10.1073/pnas.2207595120
 35. Griffin D.E., Lin W.H., Pan C.H. Measles virus, immune control, and persistence. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2012, vol. 36, no. 3, pp. 649–662. doi: 10.1111/j.1574-6976.2012.00330.x
 36. Gupta R.K., Best J., MacMahon E. Mumps and the UK epidemic 2005. *BMJ*, 2005, no. 330: 1132. doi: 10.1136/bmj.330.7500.1132
 37. Kuter B.J., Marshall G.S., Fergie J., Schmidt E., Pawaskar M. Prevention of measles, mumps and rubella: 40 years of global experience with M-M-R-II. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2021, vol. 17, no. 12, pp. 5372–5383. doi: 10.1080/21645515.2021.2007710
 38. Lahariya C. Vaccine epidemiology: a review. *J. Family Med. Prim. Care.*, 2016, vol. 5, no. 1, pp. 7–15. doi: 10.4103/2249-4863.184616
 39. Lambert N., Strebel P., Orenstein W., Icenogle J., Poland G.A. Rubella. *Lancet*, 2015, vol. 385, no. 9984, pp. 2297–2307. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60539-0
 40. Law K.B., Peariasamy K.M., Ibrahim H.M., Abdullah N.H. Modelling infectious diseases with herd immunity in a randomly mixed population. *Sci. Rep.*, 2021, no. 11: 20574. doi: 10.1038/s41598-021-00013-2

41. Lievano F., Galea S.A., Thornton M., Wiedmann R.T., Manoff S.B., Tran T.N., Amin M.A., Seminack M.M., Vagie K.A., Dana A., Plotkin S.A. Measles, mumps, and rubella virus vaccine (M-M-R™II): a review of 32 years of clinical and postmarketing experience. *Vaccine*, 2012, vol. 30, no. 48, pp. 6918–6926. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.08.057
42. Mawson A.R., Croft A.M. Rubella virus infection, the congenital rubella syndrome, and the link to autism. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2019, vol. 16, no. 19: 3543. doi: 10.3390/ijerph16193543
43. Montalbán A., Corder R.M., Gomes M.G.M. Herd immunity under individual variation and reinfection. *J. Math. Biol.*, 2022, vol. 85, no. 1: 2. doi: 10.1007/s00285-022-01771-x
44. Nabarro L., Morris-Jones S., Moore D.A.J. Infections acquired by airborne transmission. *Peter's Atlas of Tropical Medicine and Parasitology*, 2020, pp. 244–281. doi: 10.1016/B978-0-7020-4061-0.00004-2
45. Ohfuji S., Takagi A., Nakano T., Kumihashi H., Kano M., Tanaka T. Mumps-related disease burden in Japan: analysis of JMDC health insurance reimbursement data for 2005–2017. *J. Epidemiol.*, 2021, vol. 31, no. 8, pp. 464–470. doi: 10.2188/jea.JE20200048
46. Otshudiema J.O., Acosta A.M., Cassiday P.K., Hadler S.C., Hariri S., Tiwari T.S. P. Respiratory illness caused by *Corynebacterium diphtheriae* and *C. ulcerans*, and use of diphtheria antitoxin in the United States, 1996–2018. *Clin. Infect. Dis.*, 2021, vol. 73, no. 9, pp. e2799–e2806. doi: 10.1093/cid/ciaa1218
47. Our World in Data. URL: <https://ourworldindata.org> (27.04.2024)
48. Parkman P.D., Meyer H.M. Jr. Prospects for a rubella virus vaccine. *Prog. Med. Virol.* 1969, vol. 11, pp. 80–106.
49. Papadopoulos T., Vynnycky E. Estimates of the basic reproduction number for rubella using seroprevalence data and indicator-based approaches. *PLoS Comput Biol.*, 2022, vol. 18, no. 3: e1008858. doi: 10.1371/journal.pcbi.1008858
50. Piret J., Boivin G. Pandemics throughout history updated. *Front. Microbiol.*, 2022, no. 13: 988058. doi: 10.3389/fmicb.2020.63173
51. Plans P. New preventive strategy to eliminate measles, mumps and rubella from Europe based on the serological assessment of herd immunity levels in the population. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2013, vol. 32, no. 7, pp. 961–966. doi: 10.1007/s10096-013-1836-6
52. Plans-Rubió, P. Evaluation of the establishment of herd immunity in the population by means of serological surveys and vaccination coverage. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2012, vol. 8, no. 2, pp. 184–188. doi: 10.4161/hv.18444
53. Pollard A.J., Bijker E.M. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nat. Rev. Immunol.*, 2021, vol. 21, no. 2, pp. 83–100. doi: 10.1038/s41577-020-00479-7
54. Public Health Agency of Canada, Vaccination Coverage Goals and Vaccine Preventable Disease Reduction Targets by 2025. URL: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/immunization-vaccine-priorities/national-immunization-strategy/vaccination-coverage-goals-vaccine-preventable-diseases-reduction-targets-2025.html#1.1.3> (19.05.2024)
55. Robinson J. Pandemics. URL: <https://www.webmd.com/cold-and-flu/what-are-epidemics-pandemics-outbreaks> (27.04.2024)
56. Rozhnova G., Metcalf C.J.E., Grenfell B.T. Characterizing the dynamics of rubella relative to measles: the role of stochasticity. *J. R. Soc. Interface*, 2013, vol. 10, no. 88: 20130643. doi: 10.1098/rsif.2013.0643
57. Schenk J., Abrams S., Theeten, H. Van Damme P., Beutels P., Hens N. Immunogenicity and persistence of trivalent measles, mumps, and rubella vaccines: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.*, 2021, vol. 21, no. 2, pp. 286–295. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30442-4
58. Shah N., Ghosh A., Kumar K., Dutta T., Mahajan M. A review of safety and immunogenicity of a novel measles, mumps, rubella (MMR) vaccine. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2024, vol. 20, no. 1: 2302685. doi: 10.1080/21645515.2024.2302685
59. Su Q., Feng Z., Hao L., Ma C., Hagan J. E., Grant G. B., Wen N., Fan C., Yang H., Rodewald L. E., Wang H., Glasser J.W. Assessing the burden of congenital rubella syndrome in China and evaluating mitigation strategies: a meta-population modeling study. *Lancet Infect. Dis.*, 2021, vol. 21, no. 7, pp. 1004–1013. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30475-8
60. Su S.B., Chang H.L., Chen A.K. Current status of mumps virus infection: epidemiology, pathogenesis, and vaccine. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2020, vol. 17, no. 5: 1686. doi: 10.3390/ijerph17051686
61. Thompson K.M. Evolution and use of dynamic transmission models for measles and rubella risk and policy analysis. *Risk Anal.*, 2016, vol. 36, no. 7, pp. 383–1403. doi: 10.1111/risa.12637
62. Trabert B., Graubard B.I., Erickson R.L., McGlynn K.A. Childhood infections, orchitis and testicular germ cell tumours: a report from the STEED study and a meta-analysis of existing data. *Br. J. Cancer*, 2012, vol. 106, no. 7, pp. 1331–1334. doi: 10.1038/bjc.2012.45
63. Trainor E.A., Nicholson T.L., Merkel T.J. Bordetella pertussis transmission. *Pathog. Dis.*, 2015, vol. 73, no. 8: fiv068. doi: 10.1093/femspd/fiv068
64. Van der Kuyl A.C. Historic and prehistoric epidemics: an overview of sources available for the study of ancient pathogens. *Epidemiologia (Basel)*, 2022, vol. 3, no. 4, pp. 443–464. doi: 10.3390/epidemiologia3040034
65. Wald A., Wolfowitz J. Confidence limits for continuous distribution functions. *Ann. Math. Statist.*, 1939, vol. 10, no. 2, pp. 105–118. URL: www.jstor.org/stable/2235689 (10.07.2021)
66. Wang C.C., Prather K.A., Sznitman J., Jimenez J.L., Lakdawala S.S., Tufekci Z., Marr L.C. Airborne transmission of respiratory viruses. *Science*, 2021, vol. 373, no. 6558: eabd9149. doi: 10.1126/science.abd9149
67. Wang Z., Yan R., He H., Li Q., Chen G., Yang S., Chen E. Difficulties in eliminating measles and controlling rubella and mumps: a cross-sectional study of a first measles and rubella vaccination and a second measles, mumps, and rubella vaccination. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 2: e89361. doi: 10.1371/journal.pone.0089361
68. World Health Organization. Coronavirus (COVID-19). URL: data.who.int/covid19/cases (06.04.2024)
69. Wu H., Wang F., Tang D., Han D. Mumps orchitis: clinical aspects and mechanisms. *Front. Immunol.*, 2021, no. 12: 582946. doi: 10.3389/fimmu.2021.582946
70. Yadegari I., Omid M., Smith S.R. The herd-immunity threshold must be updated for multi-vaccine strategies and multiple variants. *Sci. Rep.*, 2021, vol. 11, no. 22970. doi: 10.1038/s41598-021-00083-2
71. Yoo J.W., Tae B.S., Chang H.K., Song M.S., Cheon J., Park J.Y., Bae J.H. Epidemiology of mumps, mumps complications, and mumps orchitis in Korea using the National Health Insurance Service database. *Investig. Clin. Urol.*, 2023, vol. 64, no. 4, pp. 412–417. doi: 10.4111/icu.20230064

72. Yung C.F., Ramsay M. Estimating true hospital morbidity of complications associated with mumps outbreak, England, 2004/05. *Euro Surveill.*, 2016, vol. 21, no. 33: 30320. doi: 10.2807/1560-7917
73. Zhao X., Liu S., Yin Y., Zhang T.T., Chen Q. Airborne transmission of COVID-19 virus in enclosed spaces: an overview of research methods. *Indoor Air*, 2022, vol. 32, no. 6: e13056. doi: 10.1111/ina.13056

Авторы:

Попова А.Ю., д.м.н., профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;

Егорова С.А., д.м.н., зам. директора по инновациям ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Смирнов В.С., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Ежлова Е.Б., к.м.н., заместитель руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;

Миличкина А.М., к.м.н., главный врач медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Мельникова А.А., к.м.н., заместитель начальника управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;

Башкетова Н.С., руководитель управления Роспотребнадзора по Санкт-Петербургу, Санкт-Петербург, Россия;

Историк О.А., руководитель управления Роспотребнадзора по Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия;

Буц Л.В., начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия;

Рэмзи Э.С., научный аналитик ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Дрозд И.В., к.б.н., зав. центральной клинико-диагностической лабораторией ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Жимбаева О.Б., врач Центральной клинико-диагностической лаборатории Медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Дробышевская В.Г., врач клинической лабораторной диагностики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Данилова Е.М., врач-педиатр высшей категории, зав. поликлиническим отделением медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Иванов В.А., IT-аналитик ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Тотоян Арег А., д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Popova A.Yu., DSc (Medicine), Professor, Head of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;

Egorova S.A., DSc (Medicine), Deputy Director for Innovation, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Smirnov V.S., DSc (Medicine), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Ezhlova E.B., PhD (Medicine), Deputy Head of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;

Milichkina A.M., PhD (Medicine), Head Physician of the Medical Center of St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Melnikova A.A., PhD (Medicine), Deputy Head of the Epidemiological Surveillance Department, Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;

Bashketova N.S., Head of Rospotrebnadzor Office for St. Petersburg, St. Petersburg, Russian Federation;

Istoriok O.A., Head of Rospotrebnadzor Office for Leningrad Region, St. Petersburg, Russian Federation;

Buts L.V., Head of Epidemiological Surveillance Department, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in Leningrad Oblast, St. Petersburg, Russian Federation;

Ramsay E.S., Science Analyst, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Drozhd I.V., PhD (Biology), Head of the Central Clinical Diagnostic Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Zhimbaeva O.B., Physician, Central Clinical Diagnostic Laboratory of the Medical Center, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Drobyshevskaya V.G., Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Center of St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Danilova E.M., Pediatrician, Head of the Polyclinic Department of the Medical Center, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Ivanov V.A., IT analyst, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Totolian Areg A., RAS Full Member, DSc (Medicine), Professor, Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ГЛЮКАФЕРОН В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ СРЕДНЕТЯЖЕЛОЙ ФОРМЫ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ SARS-CoV-2

Е.В. Безрукова¹, Е.В. Воробейчиков², В.Г. Конусова², А.С. Симбирцев^{3,4}, С.А. Артюшкин¹, Н.О. Шатый¹

¹ ФБГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

² ООО «Полифарм», Санкт-Петербург, Россия

³ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. В данной статье представлены результаты ограниченного, слепого, плацебо-контролируемого исследования по изучению влияния комплексного препарата Глюкаферон состоящего преимущественно из бета-глюканов, получаемых из пищевых грибов Вешенка обыкновенная, и биологически активных веществ с известной антиоксидантной и противовоспалительной активностью, на эффективность стандартной терапии среднетяжелой формы острой инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. В исследование было включено 60 человек, мужчины и женщины, в возрасте от 18 до 75 лет, получавших стандартную терапию, регламентированную 11-й версией временных методических рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19), в течение 10 дней. Критерии включения пациентов в исследование: мужчины и женщины в возрасте от 18 до 75 лет, с положительным ПЦР-тестом на SARS-CoV-2, температурой тела $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ в течение 3 дней; наличие типичной коронавирусной пневмонии подтвержденной КТ; согласие пациентов на госпитализацию и участие в исследовании. Пациенты, включенные в исследование, были рандомизированы на 2 группы по 30 человек. Контрольная группа получала стандартное лечение и плацебо, в испытываемой группе стандартное лечение дополнялось препаратом Глюкаферон. К концу лечения в обеих группах, независимо от схемы лечения, у всех пациентов отмечена положительная динамика. При рентгенологическом обследовании определялось значительное уменьшение интенсивности и размеров ранее выявляемых зон уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла». Остаточные явления проявлялись в виде ретикулярных изменений, слабоинтенсивных зон уплотнения без четких контуров. Насыщение крови кислородом также восстанавливалось до нормальных показателей. Явления аносмии в обеих группах отмечали не более 6% пациентов. Оценка пациентами с помощью визуальных аналоговых шкал интенсивно-

Адрес для переписки:

Безрукова Евгения Валерьевна
195067, Россия, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47,
ФБГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский
университет имени И.И. Мечникова.
Тел.: 8 921 759-07-88.
E-mail: ban_@mail.ru

Contacts:

Evgeniya V. Bezrukova
195067, Russian Federation, St.Petersburg, Piskarevskii pr., 47,
I.I. Mechnikov North-Western State Medical University.
Phone: +7 921 759-07-88.
E-mail: ban_@mail.ru

Для цитирования:

Безрукова Е.В., Воробейчиков Е.В., Конусова В.Г., Симбирцев А.С., Артюшкин С.А., Шатый Н.О. Опыт применения препарата Глюкаферон в составе комплексной терапии среднетяжелой формы новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2 // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1209–1220. doi: 10.15789/2220-7619-EOU-17526

Citation:

Bezrukova E.V., Vorobeychikov E.V., Konusova V.G., Simbirtsev A.S., Artyushkin S.A., Shaty N.O. Experience of using the preparation Glucaferon within a combination therapy of moderate SARS-CoV-2 caused novel coronavirus infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1209–1220. doi: 10.15789/2220-7619-EOU-17526

сти двух наиболее тяжело переносимых симптомов: кашля и одышки также свидетельствовала о положительной динамике. Несмотря на то что у большинства пациентов, включенных в данное исследование, имелись предпосылки для осложненного течения COVID-19, а также выявленные при поступлении в стационар у некоторых пациентов критические уровни лабораторных показателей, применение Глюкаферона не вызвало никаких отрицательных и побочных реакций, не стимулировало иммунного ответа, при этом препарат продемонстрировал клинически значимое противовоспалительное действие.

Ключевые слова: Глюкаферон, коронавирус, бета-D-глюкан, цитокиновый шторм, Вешенка обыкновенная.

EXPERIENCE OF USING THE PREPARATION GLUCAFERON WITHIN A COMBINATION THERAPY OF MODERATE SARS-CoV-2-CAUSED NOVEL CORONAVIRUS INFECTION

Bezrukova E.V.^a, Vorobeychikov E.V.^b, Konusova V.G.^b, Simbirtsev A.S.^{c,d}, Artyushkin S.A.^a, Shaty N.O.^a

^a I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^b LLC "Polypharm", St. Petersburg, Russian Federation

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

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

Abstract. Here, we present the results of a limited, blind, placebo-controlled study examining the effect of the multi-component preparation Glucaferon consisting primarily of beta-glucans obtained from the edible Oyster mushroom, and biologically active substances with verified antioxidant and anti-inflammatory activity on the effectiveness of routine therapy for moderate-to-severe acute SARS-CoV-2-caused infection. There were enrolled 60 subjects (males and females) aged 18 to 75 years, who received a 10-day-long therapy in accordance with the "Prevention, Diagnostics and Treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Temporary Guidelines. Version 11". Inclusion criteria were as follows: males and females aged 18 to 75 years, with positive PCR SARS-CoV-2 result, body temperature $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ for 3 days; presence of typical CT scan confirmed coronavirus pneumonia; patients' consent to hospitalization and participation in the study. Patients included in the study were randomized into 2 groups per 30 subjects. In control group, subjects received routine treatment and placebo; in comparison group — routine treatment combined with the preparation Glucaferon. By the end of treatment, all patients in both groups showed positive dynamics. An X-ray examination revealed significantly decreased intensity and size of pre-identified "ground glass" areas of compaction in lung tissue. Residual effects manifested as reticular changes, low-intensity areas of compaction without clear contours. Blood oxygen saturation was also restored to normal levels. Anosmia in both groups was noted by no more than 6% of patients. Patients' assessment of the intensity of the two most severe symptoms, cough and shortness of breath, using visual analogue scales, also revealed positive dynamics. Despite that the majority of study patients had prerequisites for a complicated COVID-19 course as well as critical levels of laboratory parameters detected in some patients upon admission, the use of Glucaferon caused no negative or adverse reactions, nor stimulated an immune response, while the preparation Glucaferon demonstrated a clinically significant anti-inflammatory effect.

Key words: Glucaferon, coronavirus, beta-D-glucan, cytokine storm syndrome, oyster mushroom.

Введение

Несмотря на то что доминирующей стратегией в борьбе с COVID-19 является вакцинация, поиск и применение препаратов, обеспечивающих функционально адекватный иммунный ответ по-прежнему остается актуальным направлением. Основным требованием, предъявляемым к таким средствам, является их способность формировать сбалансированный иммунный ответ, то есть с одной стороны стимулировать активную противовирусную защиту, а с другой ограничивать избыточную воспалительную реакцию. В течение пандемии COVID-19 было опробовано большое количество средств иммуотропного действия, существующих в настоящее время на фармацевтическом рынке, от препаратов специфической направленности, таких как антицитокиновые

препараты, блокирующие эффекты провоспалительных цитокинов: IL-1, IL-6, TNF, ингибиторы JAK-киназ, плазма от переболевших и т. д., так и неспецифические иммуномодуляторы, включая иммуноглобулины человека, кортикостероиды, модуляторы ангиотензина, макролиды, гидроксихлорохин и хлорохин, колхицин и т. д. [26]. К сожалению, большинство предлагаемых препаратов показали малую эффективность и не были включены в стандартные схемы лечения. В связи с этим, большой интерес был проявлен к бета-D-глюканам грибного и дрожжевого происхождения, продемонстрировавших, помимо иммуностимулирующего действия, большой медикаментозный потенциал: противовоспалительный, противовирусный, гипогликемический, антиатерогенный, гиполипидемический и многие другие эффекты [15].

Целью данного исследования являлось: изучение влияния БАД Глюкаферон состоящего из бета-глюканов, получаемых из пищевых грибов Вешенка обыкновенная, и комплекса биологически активных веществ с известной антиоксидантной и противовоспалительной активностью, на эффективность стандартной терапии среднетяжелой формы острой инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2.

Материалы и методы

Всего в исследование было включено 60 человек с диагнозом: «Новая коронавирусная инфекция COVID-19, средней степени тяжести». Лабораторная и инструментальная диагностика заболевания, а также лечение определялись временными методическими рекомендациями «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 11 от 07.05.2021». Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова (от 12.12.2021г., протокол № 8) и проведено ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова на отделении отоларингологии СПб ГБУЗ Городской Покровской больницы в период с 28 января по 20 апреля 2022 г. Формат исследования: ограниченное, слепое, плацебо-контролируемое.

Критерии включения пациентов в исследование: мужчины и женщины в возрасте от 18 до 75 лет, с положительным ПЦР-тестом на SARS-CoV-2, температурой тела $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ в течение 3 дней; наличие типичной коронавирусной пневмонии, подтвержденной КТ; согласие пациентов на госпитализацию и участие в исследовании.

Критерии исключения пациентов из исследования: наличие признаков ОРДС, необходимость проведения ИВЛ; предшествующая антибактериальная терапия на протяжении двух и более дней; индивидуальная непереносимость компонентов БАД Глюкаферон.

Лабораторная диагностика проводилась до начала лечения — при поступлении пациентов в стационар и через 10 дней — при выписке из стационара. Объектом исследования являлись: мазки из носоглотки, ротоглотки и периферическая кровь. В мазках методом ПЦР в режиме реального времени определяли наличие вируса SARS-CoV-2. Клинический анализ крови выполняли с помощью автоматического гематологического анализатора «Mindrey BC-305» (Китай), биохимических показателей крови на автоматическом биохимическом анализаторе «Olympus AU680» (Япония).

До начала лечения всем пациентам выполнялась компьютерная томография легких и органов грудной клетки на 80-рядном компью-

терном томографе «Canon Aquilion Prime SP 80» (Япония). Исследования проводились в срезах толщиной 0,5 мм. При выписке проводили контрольную рентгенографию легких в двух проекциях, либо компьютерную томографию.

Выраженность двух наиболее частых и типичных жалоб пациентов при среднетяжелом течении COVID-19, кашля и одышки, оценивали с помощью 100-балльных визуальных аналоговых шкал (ВАШ), позволяющих больным самостоятельно определять интенсивность проявления симптома [27].

Стандартное лечение новой коронавирусной инфекцией COVID-19, проводимой согласно методическим рекомендациям (версия 11 от 07.05.2021), включало следующие препараты: этиологическое — Арбидол 200 мг 4 раза в день; патогенетическое — Клексан 20 мг в сутки; Дексаметазон в дозе 8–20 мг/сутки в/в (в зависимости от тяжести заболевания 1–2 раза в сутки); симптоматическое — парацетамол. Глюкаферон и плацебо пациенты получали по 2 капсулы 2 раза в день. Длительность лечения — 10 дней.

Пациенты, включенные в исследование, были рандомизированы на 2 группы по 30 человек. Контрольная группа получала стандартное лечение + плацебо, в испытываемой группе стандартное лечение дополнялось БАД Глюкаферон.

Статистическая обработка. Анализ результатов исследования проводили с помощью методов описательной и непараметрической статистики [1]. Для оценки статистической достоверности различий значений лабораторных показателей использовали непараметрический критерий Манна–Уитни для независимых выборок. Вероятность (p) $< 0,05$ оценивали как достаточную для вывода об эффективности препарата.

Результаты

В исследовании участвовали: 22 мужчины и 38 женщин (всего 60 человек), в возрасте от 26 до 74 лет (средний возраст 56,9). Из них у 40 пациентов, что составило 66,6% от общего количества, в анамнезе выявлены различные сопутствующие заболевания. 20 человек (33,3%) отрицали наличие хронических болезней.

Как показал анализ нозологического состава коморбидной патологии, только у 4-х пациентов (10%) имелось одно побочное серьезное заболевание. У большинства же установлено наличие 2-х и более патологий, причем наиболее часто встречались пациенты с 3-мя и 4-мя диагнозами одновременно (57,4%). Как отмечают клиницисты, в последние годы структура хронической заболеваемости населения все больше приобретает полиморбидный харак-

тер, то есть у пациента симультанно выявляют несколько нозологических форм [2]. Причем распространенность полиморбидности значительно повышается с возрастом, достигая почти 100% у лиц старше 65 лет. Следует отметить, что мультиморбидность является не только серьезной социальной проблемой, тяжким бременем ложащейся на здравоохранение, но и значительно увеличивает риски смерти. С особой очевидностью это было продемонстрировано во время пандемии COVID-19, показавшей, что вероятность осложненного течения и смерти от коронавирусной инфекции напрямую связана с количеством сопутствующих хронических заболеваний и возрастом больного [4, 8].

В большинстве статей, опубликованных за время пандемии показано, что чаще всего госпитализации подлежат пациенты больные COVID-19 в анамнезе которых такие заболевания как артериальная гипертензия, гипертоническая болезнь, осложненная сердечно-сосудистыми заболеваниями или ассоциированными с ними цереброваскулярными нарушениями [18, 19]. Среди 40 пациентов с коморбидной патологией 29 (72,5%) имели в анамнезе: артериальную гипертензию, гипертоническую болезнь с риском развития сердечно-сосудистых осложнений и 9 (22,5%) с цереброваскулярными нарушениями, патогенетически связанные с сердечно-сосудистыми заболеваниями. На втором месте среди факторов, определяющих осложненное течение COVID-19, по наблюдениям большинства специалистов, являются заболевания, вызванные нарушениями метаболизма глюкозы и липидов, такие как сахарный диабет и ожирение [7, 14]. Среди наших пациентов эти патологии встречались приблизительно с одинаковой частотой (10%), что согласуется с данными других исследователей. Известно, что такие хронические заболевания, как ХОБЛ и бронхиальная астма, ослабляют иммунитет и увеличивают частоту и длительность заболеваний ОРВИ [22]. Однако сообщения о влиянии хронической легочной патологии на риски заражения и прогрессирования COVID-19 достаточно противоречивы. Среди пациентов, обследованных нами, хроническая патология легких встречалась не чаще 7–8%.

Как уже отмечалось ранее, с возрастом увеличиваются риски тяжелого течения и летального исхода COVID-19 [8]. В нашем ограниченном клиническом наблюдении средний возраст пациентов был равен 57 годам (27–74). Однако пациенты с коморбидной патологией сердечно-сосудистой системы были старше на 6 лет, средний возраст 63 года (35–74). В то же время среди пациентов, не имевших сердечно-сосудистых и цереброваскулярных нарушений, средний возраст составил 42,7 года (27–66), что определило разницу между этими группами в 21 год.

Большинство исследователей отмечает преобладание среди больных COVID-19 мужчин [5]. Однако нами не было выявлено такой закономерности. Среди пациентов в нашем исследовании 63,3% составили женщины.

Таким образом, пациенты с диагнозом «Новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, среднетяжелое течение», вошедшие в данное клиническое исследование, были представлены лицами старшей возрастной группой с патологией сердечно-сосудистой системы полиморбидного характера.

При поступлении жалобы, предъявляемые пациентами, в основном мало отличались от симптомов обычной сезонной простуды. Наиболее частыми признаками заболевания являлись: головная боль, ломота в суставах и мышцах, выраженная общая слабость. Температура при этом не превышала 38°C, только в единичных случаях поднималась до 39°C. Более чем у половины пациентов (54,2%) были выявлены нарушения обоняния, проявляющиеся частичным или полным отсутствием восприятия запахов. Постпандемический анализ особенностей течения COVID-19 показал, что обонятельная дисфункция является одним из патогномичных признаков этого заболевания. Несмотря на то что anosmia возникает и при других сезонных вирусных инфекциях, обычно в результате заложенности носа и ринореи, при COVID-19 этот симптом появляется в самом начале заболевания и при отсутствии насморка [3]. В нашем исследовании субъективно наиболее тяжело переносимыми пациентами симптомами были: приступообразный сильный сухой кашель с ощущением нехватки воздуха и одышка в покое. Использование визуальных аналоговых шкал (ВАШ) показало, что при поступлении интенсивность кашля оценивалась пациентами на уровне $89,1 \pm 5,4$ баллов, а одышка в покое и при минимальной нагрузке в $71,4 \pm 6,7$ баллов. При этом сатурация крови кислородом снижалась до 90%, при норме от 95%.

При проведении компьютерной томографии определялось двухстороннее поражение легочной ткани в пределах 25–50% с субплевральными участками уплотнения по типу «матового стекла», что соответствовало критерию КТ-2, то есть среднетяжелой форме пневмонии. Окончательный диагноз «Новая коронавирусная инфекция COVID-19» устанавливался на основании положительного ПЦР-теста.

Результаты лабораторных исследований периферической крови пациентов со среднетяжелой формой COVID-19 до и после лечения представлены в табл. 1. Необходимо отметить, что в таблицу включены только показатели, продемонстрировавшие плацебо-контролируемую

Таблица 1. Статистическая достоверность лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 до и после лечения

Table 1. Statistical reliability of laboratory parameters in patients with COVID-19 before and after treatment

Показатели Indicators	Референсные значения Reference values	Значения до лечения Values before treatment n = 60 Me (min-max)	Значения после лечения Values after treatment n = 30		U-критерий (Манна-Уитни) U-test (Mann-Whitney)	Z-критерий (Фишера) Z-criterion (Fisher's)	Уровень значимости, p Significance level, p
			Группы пациентов Patient groups	Me			
Лейкоциты White blood cells	4,0–9,0 × 10 ⁹ /л (L)	10,03 × 10 ⁹ /л (L) (2,44–15,40)	Плацебо Placebo	6,20 × 10 ⁹ /л (L) (4,7–8,85)	395,5	-4,318	< 0,01
			Глюкаферон Gluciferon	5,93 × 10 ⁹ /л (L) (4,12–8,5)			
Нейтрофилы Neutrophils	2,04–5,8 × 10 ⁹ /л (L)	7,80 × 10 ⁹ /л (L) (1,23–11,88)	Плацебо Placebo	3,85 × 10 ⁹ /л (L) 2,87–5,09	303,0	-5,110	< 0,01
			Глюкаферон Gluciferon	3,49 × 10 ⁹ /л (L) 1,99–4,76			
Лимфоциты Lymphocytes	1,2–3,0 × 10 ⁹ /л (L)	1,10 × 10 ⁹ /л (L) (0,7–5,2)	Плацебо Placebo	1,85 × 10 ⁹ /л (L) (1,04–4,5)	1388,0	4,177	> 0,05
			Глюкаферон Gluciferon	2,41 × 10 ⁹ /л (L) (0,7–4,08)			
СОЭ ESR	2,0–15,0 мм/ч (mm/hour)	35,0 мм/ч (mm/hour) (2–81)	Плацебо Placebo	27,5 мм/час (mm/hour) (14–85)	758,0	-1,215	> 0,05
			Глюкаферон Gluciferon	18 (2–64)			
СРБ CRP	0,0–5,0 мг/л (mg/l)	31,68 мг/л (mg/l) (1,00–99,84)	Плацебо Placebo	7,65 мг/л (mg/l) (1,6–51,62)	355,0	-4,665	< 0,01
			Глюкаферон Gluciferon	2,82 мг/л (mg/l) (0,49–21,92)			
IL-6	0,0–7,0 пг/мл (pg/ml)	10,88 пг/мл (pg/ml) (1,28–16,55)	Плацебо Placebo	5,89 пг/мл (pg/ml) (1,04–9,68)	375,0	-4,494	< 0,01
			Глюкаферон Gluciferon	1,48 пг/мл (pg/ml) (0,21–4,37)			
Ферритин Ferritin	10,0–120,0 мкг/л (mcg/l)	361,2 мкг/л (mcg/l) (56,23–654,3)	Плацебо Placebo	98,03 мкг/л (mcg/l) (30,88–195,7)	224,0	-5,786	< 0,01
			Глюкаферон Gluciferon	86,9 мкг/л (mcg/l) (56,7–123,4)			

Окончание таблицы 1. Статистическая достоверность лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 до и после лечения

Table 1. Statistical reliability of laboratory parameters in patients with COVID-19 before and after treatment (continued)

Показатели Indicators	Референсные значения Reference values	Значения до лечения Values before treatment n = 60 Me (min-max)	Значения после лечения Values after treatment		U-критерий (Манна-Уитни) U-test (Mann-Whitney)	Z-критерий (Фишера) Z-criterion (Fisher's)	Уровень значимости, p Significance level, p
			Группы пациентов Patient groups n = 30	Me			
Тромбоциты Platelets	180,0–320,0 × 10 ⁹ /л (L)	175,0 × 10 ⁹ /л (48–580)	Плацебо Placebo	308,5 × 10 ⁹ /л (L) (46–590)	1435,0	4,579	> 0,05
			Глюкаферон Gluciferon	274,5 × 10 ⁹ /л (L) (142–620)	1435,0	-4,579	> 0,05
D-димер D-dimer	0,0–230,0 нг/л (ng/l)	382,0 нг/л (ng/l) (151–641)	Плацебо Placebo	179,0 нг/мл (ng/l) (15–296)	101,0	-6,839	< 0,01
			Глюкаферон Gluciferon	140,0 нг/мл (ng/l) (18–347)	54,5	-7,237	< 0,01

Примечание. Me — медианные значения показателя; n — число пациентов в группе.
Note. Me — median values of the indicator; n — the number of patients in the group.

эффективность лечения. Данные биохимического анализа крови пациентов не приведены, так как при средне-тяжелом течении COVID-19 отсутствовали признаки органной дисфункции, что подтверждалось стабильностью показателей до и после лечения. Следует отметить, что существенным ограничением данной работы являются только два срока исследования: при поступлении пациентов и выписке, что не позволило нам изучить динамические изменения лабораторных показателей в процессе лечения. Как правило, пациенты со среднетяжелой формой COVID-19 поступают в клинику на 7–10 день заболевания при ухудшении клинического состояния, характеризующегося стойким повышением температуры тела, снижением сатурации и нарастанием признаков дыхательной недостаточности и гипоксии. Поэтому данные лабораторной диагностики представленные в табл. 1, по-видимому, отражают состояние пациентов в период развернутой клинической картины.

Одним из наиболее простых и доступных методов лабораторной диагностики COVID-19 является общий анализ крови (ОАК). Показано, что наиболее информативными параметрами, отражающими не только активность воспалительной и иммунной реакций организма на инфекцию, но также позволяющими прогнозировать выживаемость больных COVID-19 являются количество нейтрофилов, лимфоцитов и тромбоцитов. Общее количество лейкоцитов в периферической крови мало отражает специфику новой коронавирусной инфекции [20].

Уровень нейтрофилов в периферической крови больных COVID-19 может быть как сниженным, так и повышенным, в зависимости от стадии и степени тяжести заболевания. Прогностически наиболее серьезного внимания требует нейтрофилия, являющаяся манифестацией гиперовоспалительной реакции организма на SARS-CoV-2 и предиктором тяжелого течения инфекции [20, 28]. Нейтрофилез может свидетельствовать также о присоединении бактериальной инфекции.

Наиболее характерным признаком новой коронавирусной инфекции является лимфопения, выявляемая как при легком (от 40–80%), так и тяжелом течении болезни (более 95%). При этом чем ниже абсолютное количество лимфоцитов в крови, тем тяжелее клиническое состояние пациента. Критическим считается уровень ниже $0,8 \times 10^9$ /л. При более мягко протекающей инфекции лимфопения не столь выражена ($1,1 \times 10^9$ /л). Следует отметить, что снижение пула лимфоцитов в крови не является строго специфическим признаком COVID-19, так как известно, что целый ряд вирусов и бактерий вызывает их апоптотическую гибель.

Однако при новой коронавирусной инфекции лимфопения проявляется рано и продолжается в течение длительного периода. Показано, что снижение уровня лимфоцитов при COVID-19 может быть вызвано, как прямым инфицированием и последующим цитопатическим воздействием вирионов SARS-CoV-2 на лимфоциты, как это ранее было описано при родственных SARS-CoV и MERS-CoV инфекциях, так и опосредованного апоптозом истощения Т-клеточной популяции [12]. Кроме того, нельзя исключать повреждающего действия вирусов SARS-CoV-2 на иммунокомпетентные органы: селезенку и тимус. По-видимому, такой сложный и многофакторный механизм развития лимфопении приводит к длительной иммуносупрессии при COVID-19.

Изучение лейкоцитарной составляющей ОАК больных COVID-19 в нашем исследовании до лечения показало, что у 51,3% пациентов отмечено небольшое превышение уровня лейкоцитов, медиана составила $10,03 \times 10^9/\text{л}$ (2,44–15,40). Относительный нейтрофилез, также незначительно выраженный, был выявлен у 48,3% пациентов, медиана определялась на уровне $7,8 \times 10^9/\text{л}$ (1,23–11,88). Наиболее выраженные отклонения от нормативных показателей среди больных COVID-19 при поступлении были установлены в содержании лимфоцитов в периферической крови. Лимфопения до лечения зафиксирована у 31 пациента, что составило 51,7% от всех обследуемых. Медиана определена на уровне $1,1 \times 10^9/\text{л}$ (0,7–5,2). Однако у 5 пациентов количество лимфоцитов в крови определялось ниже критического уровня — $0,8 \times 10^9/\text{л}$. По-видимому, вирус SARS-CoV-2 даже при среднетяжелой форме течения инфекции вызывает более выраженный дефект иммунной ответа. Возможно, что пациенты, включенные в наше исследование, в основном были представлены старшей возрастной группой с полиморбидным фоном неотъемлемым свойством которого является процесс старения иммунной системы с провоспалительным статусом врожденного иммунитета.

Еще одним значимым клиническим и прогностическим показателем тяжести COVID-19 является тромбоцитопения, выявляемая при поступлении пациентов в стационар, поданным разных авторов от 20% до 60% [31]. Причинами тромбоцитопении при коронавирусной инфекции может быть, как прямое воздействие вируса SARS-CoV-2 на тромбоциты или на их предшественников в процессе тромбопоэза, так и усиленное расхождение пула тромбоцитов на тромбообразование или коагулопатию, развивающейся по типу ДВС-синдрома. В нашем исследовании уровень тромбоцитов незначительно отличался от референсных значений,

медиана составила $175,0 \times 10^9/\text{л}$ (48–580). Однако у трети пациентов количество тромбоцитов в периферической крови было снижено, из них у 7 человек (11,6%) уровень тромбоцитов определялся в диапазоне от $48 \times 10^9/\text{л}$ до $84 \times 10^9/\text{л}$, что соответствовало среднетяжелой степени тромбоцитопении, а у 14 (23,3%) выявлено легкое снижение тромбоцитов в пределах от $100,0 \times 10^9/\text{л}$ до $150,0 \times 10^9/\text{л}$. Возможно, снижение количества тромбоцитов у этих пациентов обусловлено более выраженным воспалением, образованием микротромбов в легочной ткани, а также сопутствующими хроническими патологиями.

Как известно, особенностью осложненного течения «новой коронавирусной инфекции» является аномальная воспалительная реакция, проявляющаяся гипервоспалительным и гиперкоагуляционным синдромами. В связи с этим отбор релевантных биомаркеров, характеризующих состояние воспалительного и коагуляционного статуса, а также дальнейший контроль за ними, как уже подчеркивалось ранее, является важнейшим этапом в терапии больных COVID-19. Наиболее прогностически ценным индикатором воспаления является СРБ — острофазовый белок, синтезируемый клетками печени с первых часов инфекции в ответ на провоспалительные цитокины, главным образом на IL-6 [20, 29]. В нашем исследовании СРБ до начала лечения был выше референсных показателей у 91,6% госпитализированных. Медиана фиксировалась на уровне 31,68 мг/л (1,00–99,84), что соответствовало обычным значениям этого показателя при вирусных инфекциях. Следует отметить, что в нашем исследовании у некоторых пациентов при поступлении содержание этого воспалительного белка превышало медианное значение в 2–3 раза.

Одним из наиболее прогностически информативных параметров, определяемых у больных новой коронавирусной инфекцией, является провоспалительный цитокин IL-6, ответственный за острофазовый ответ и развитие «цитокинового шторма». Для больных COVID-19 критичным является уровень IL-6 $> 32,1$ пг/мл [13, 23]. Определение IL-6 среди наших пациентов показало, что у 73,3% уровень этого провоспалительного цитокина был повышен, медиана составила 10,88 пг/мл (1,28–16,55), что незначительно отличалось от референсных показателей.

В стандартный набор тестов, определяющих воспалительный ответ при COVID-19, включен также такой параметр как СОЭ, несмотря на неспецифичность этого метода вследствие частых искажений результатов из-за причин, не связанных с воспалением. Однако во многих ис-

следованиях было показано, что при COVID-19 СОЭ адекватно отражает тяжесть состояния больного и достоверно коррелирует с уровнем СРБ [20]. В нашем исследовании повышение СОЭ при поступлении выявлено у 86,6% больных, что приблизительно соответствовало результатам определения СРБ, при этом медиана составила 35 мм/ч (2–81).

В период развернутой клинической картины COVID-19 показателем неблагоприятного исхода заболевания является ферритин — белок, синтезируемый различными клетками организма, в том числе и лейкоцитами, основной функцией которого является внутриклеточное депонирование железа. Однако при тяжелых вирусных инфекциях, сопровождающихся деструкцией тканей, ферритин в больших количествах появляется в сыворотке, становясь маркером острого воспаления [6]. Среди пациентов, включенных в данное исследование, увеличение содержания ферритина в сыворотке крови выявлено у 81,6%, медиана равнялась 361,2 мкг/л (56,23–654,3), что отражало умеренную реакцию на вирусную инфекцию.

Развитие осложненного течения COVID-19 в значительной степени связано с нарушениями гемостаза, протекающими по типу гиперкоагуляции. Как уже отмечалось ранее одним из признаков этих осложнений является тромбоцитопения. Однако определяющим тестом для диагностики нарушений гемокоагуляции при COVID-19 является определение уровня D-димера — фрагмента фибрина, образующегося при его фибринолитическом разрушении. Увеличение концентрации D-димера в крови позволяет определять активность распада фибрина под действием плазминогена, что происходит практически одновременно с образованием

тромбов, то есть по количеству D-димера можно судить об активности процесса тромбообразования. Показано, что 4–5-кратное увеличение нормативного показателя D-димера является предиктором смертельного исхода [32]. Среди пациентов, обследованных нами при поступлении у 90% уровень D-димера был увеличен, но медиана, равная 382,0 нг/л (151–641), несущественно превышала нормативные показатели. Результаты определения D-димера согласуются с небольшим снижением уровня тромбоцитов, выявленным нами среди обследованных больных, что, по-видимому, свидетельствует о незначительной активации системы свертывания и тромбообразования. Определение АПТВ среди обследуемых пациентов не выявило отклонений от референсных значений.

Таким образом, лабораторное обследование госпитализированных пациентов до начала лечения показало, в чем в основном реакция на вирусную инфекцию носила умеренный характер и соответствовала среднетяжелой форме COVID-19. Выявленные у некоторых пациентов превышения референсных значений в 2–3 раза возможно обусловлены, с одной стороны, размером пораженной легочной ткани, определяемой согласно критерию КТ-2 в широком диапазоне от 25% до 50%, а с другой — характером коморбидной патологии.

К концу лечения в обеих группах, независимо от схемы лечения, у всех пациентов отмечена положительная динамика. Ухудшения состояния пациентов, а также побочных реакций на использованную терапию не наблюдалось. При рентгенологическом обследовании определялось значительное уменьшение интенсивности и размеров ранее выявляемых зон уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла».

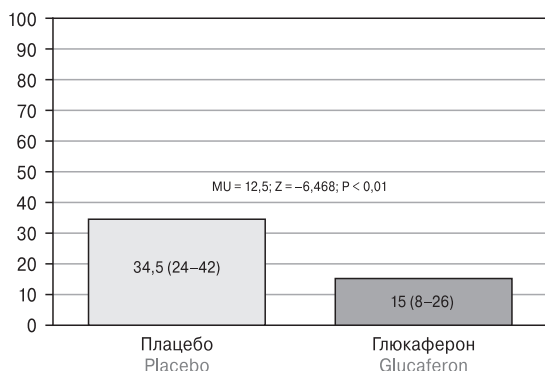


Рисунок 1. Медианные значения (баллы) выраженности кашля у больных COVID-19 после лечения, получавших плацебо и Глюкаферон

Figure 1. Median values (scores) of cough severity in COVID-19 patients after treatment treated with placebo and Glucaferon

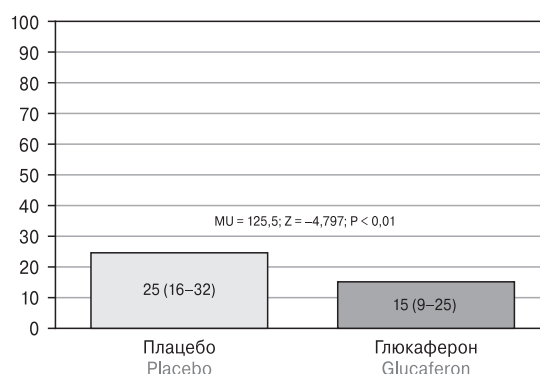


Рисунок 2. Медианные значения (баллы) выраженности одышки у больных COVID-19 после лечения, получавших плацебо и Глюкаферон

Figure 2. Median values (scores) of dyspnea severity in COVID-19 patients after treatment treated with placebo and Glucaferon

Остаточные явления проявлялись в виде ретикулярных изменений, слабоинтенсивных зон уплотнения без четких контуров. Насыщение крови кислородом также восстанавливалось до нормальных показателей (97–98%). Явления аносмии в обеих группах отмечали не более 6% пациентов. Оценка пациентами с помощью визуальных аналоговых шкал интенсивности двух наиболее тяжело переносимых симптомов: кашля и одышки также свидетельствовала о положительной динамике. Результаты самооценки пациентами своих жалоб представлены на рис. 1 и 2.

Сравнительный анализ лабораторных данных, полученных к концу срока лечения, продемонстрировал положительную динамику в обеих группах (табл. 1). Достоверно снизились основные биомаркеры, характеризующие иммуновоспалительный статус пациентов: СРБ, СОЭ, IL-6, ферритин; восстановились показатели лейкоцитарной составляющей формулы крови: общее количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов; также нормализовались факторы, свидетельствующие об активации свертывающей системы и процессов тромбообразования: D-димер и уровень тромбоцитов.

Таблица 2. Статистическая значимость соответствия норме показателей воспаления в результате плацебо-контролируемого лечения Глюкафероном

Table 2. Statistical significance of compliance with the norm of inflammation indicators as a result of placebo-controlled treatment with Glucaferon

Показатели воспаления Indicators of inflammation	Группы пациентов Patient groups	Показатель соответствует норме The indicator corresponds to the norm	Показатель не соответствует норме The indicator does not correspond to the norm
СРБ CRP	Плацебо (30 чел.) Placebo (30 people)	7	23
	Глюкаферон (30 чел.) Glucaferon (30 people)	17	13
Наименование критерия Name of the criterion	Хи-квадрат χ^2	Хи-квадрат с поправкой Йейтса χ^2 with the Yates amendment	Хи-квадрат с поправкой на правдоподобие χ^2 adjusted for plausibility
Значение критерия The value of the criterion	6,944	5,625	7,111
Уровень значимости, p Significance level, p	< 0,01	< 0,05	< 0,05
IL-6	Плацебо (30 чел.) Placebo (30 people)	19	11
	Глюкаферон (30 чел.) Glucaferon (30 people)	29	1
Наименование критерия Name of the criterion	Хи-квадрат χ^2	Хи-квадрат с поправкой Йейтса χ^2 with the Yates amendment	Хи-квадрат с поправкой на правдоподобие χ^2 adjusted for plausibility
Значение критерия The value of the criterion	10,417	8,438	11,850
Уровень значимости, p Significance level, p	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Ферритин Ferritin	Плацебо (30 чел.) Placebo (30 people)	20	10
	Глюкаферон (30 чел.) Glucaferon (30 people)	28	2
Наименование критерия Name of the criterion	Хи-квадрат χ^2	Хи-квадрат с поправкой Йейтса χ^2 with the Yates amendment	Хи-квадрат с поправкой на правдоподобие χ^2 adjusted for plausibility
Значение критерия The value of the criterion	6,667	5,104	7,162
Уровень значимости, p Significance level, p	< 0,05	< 0,05	< 0,01

Однако мы обратили внимание, что в группе, получавшей дополнительно Глюкаферон, такие биомаркеры как СРБ, IL-6 и ферритин при выписке из стационара практически у всех пациентов восстанавливались до нормативных показателей. В то же время у пациентов, получавших стандартную терапию, эффективность лечения была менее очевидна. Статистическая значимость соответствия показателей, характеризующих иммуновоспалительный статус, референсным значениям представлена в табл. 2.

Обсуждение

Как показал анализ пандемии 2019–2022 гг. клиническая картина COVID-19 является результатом сложного взаимодействия иммунологических, воспалительных и коагуляционных каскадов. При этом уже в самом начале пандемии были выявлена связь осложненного течения инфекции и смерти с метаболическими, онкологическими и хроническими заболеваниями, а также преклонным возрастом больных. Эти состояния объединяет наличие таких патогенетических паттернов как дисбаланс между врожденным и приобретенным иммунитетом с приоритетом врожденных реакций, эндотелиальная дисфункция, прокоагулянтная активность системы свертывания, повышенная агрегационная настроенность тромбоцитов, создающих условия для развития неконтролируемого воспаления, приводящего к «цитокиновому шторму», ОРДС, повреждению тканей и органов, тромбозам и гибели больного [13]. В связи с этим с самого начала пандемии шел поиск средств, позволяющих снизить как риски инфицирования, так и развития тяжелого течения коронавирусной инфекции. Особый интерес был проявлен к грибным бета-D-глюканам, широко используемым в традиционной медицине Юго-Восточных стран для профилактики и лечения самых различных заболеваний: онкологических, метаболических, воспалительных, в том числе и инфекционной природы. Ранее перспективность этого направления была подтверждена целым рядом европейских плацебо-контролируемых исследований, продемонстрировавших эффективность бета-D-глюканов, в том числе выделенных из Вешенки обыкновенной, для профилактики сезонных вирусных инфекций верхних дыхательных путей [25]. При этом было отмечено, что препараты не только снижали сезонную заболеваемость в наиболее уязвимых группах населения (дети и пожилые) более чем на 50%, но также сокращали длительность и тяжесть заболеваний [17]. Исследованиями последних лет установлено, что в основе профилактического действия этих природных

полимеров лежит феномен «тренированного иммунитета», то есть способности бета-D-глюканов вызывать эпигенетическую и метаболическую трансформацию клеток врожденного иммунитета, приводящую к повышению их противoinфекционной активности [16]. Однако установлено, что наряду с иммуностимуляцией грибные полисахариды способны ингибировать воспаление, что было продемонстрировано на моделях воспаления в культурах миелоидных клеток и на животных [9, 10, 30]. Механизм противовоспалительного действия бета-D-глюканов до конца не изучен. Тем не менее в ряде исследований было показано, что подавление септического воспаления бета-D-глюканами сопровождается переключением внутриклеточного сигналинга на Akt/P13K-противовоспалительный путь, что приводит к снижению синтеза провоспалительных цитокинов: IL-1 β , IL-6, TNF α , а также продукции оксида азота и простагландинов; нормализации гемостаза, за счет ингибиции тканевого фактора, уменьшения прокоагулянтной активности и агрегации тромбоцитов [30]. В последнее время грибные полисахариды классифицируют не как иммуномодуляторы, а как «модификаторы биологических реакций», то есть биологически активные вещества с полифункциональными свойствами, оказывающими регуляторное действие на гомеостаз организма [21]. Несмотря на эти сведения в литературе сложилось представление о грибных полисахаридах, только как об иммуностимуляторах. В связи с чем многие клиницисты выражали сомнение в целесообразности использования бета-D-глюканов в терапии новой коронавирусной инфекции из-за возможной гиперстимуляции иммунного ответа, провоцирующей развитие «цитокинового шторма» [11]. Однако группа японских ученых продемонстрировала клиническую эффективность и безопасность использования экзополисахаридов из *Aureobasidium pullulans* с 1-3,1-6 структурой бета-D-глюкана в терапии среднетяжелой формы COVID-19 [22, 23]. Положительный результат лечения подтверждался нормализацией показателей активности воспалительного процесса: СРБ, ферритина, D-димера и IL-6. В связи с чем авторы исследования предлагают использовать бета-D-глюканы в качестве безопасной пищевой добавки вместе с обычными методами лечения COVID-19, особенно среди наиболее уязвимых групп населения (пожилых, больных с хроническими воспалительными и метаболическими заболеваниями), а также в качестве профилактической меры при продолжающейся пандемии, обусловленной высокой мутабельностью вируса SARS-CoV-2.

Заключение

Несмотря на то что у большинства пациентов, включенных в данное исследование, имелись предпосылки для осложненного течения COVID-19 (старшая возрастная группа, гипертоническая болезнь с риском развития сердечно-сосудистых осложнений, сахарный диабет и ожирение), а также выявленные при поступлении в стационар у некоторых пациентов критические уровни лабораторных по-

казателей, применение Глюкаферона не вызвало никаких отрицательных и побочных реакций, не стимулировало иммунного ответа, при этом препарат продемонстрировал клинически значимое противовоспалительное действие.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы/References

1. Боровиков В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA: учебное пособие для вузов. М.: Горячая линия-Телеком, 2013. 288 с. [Borovikov, V.P. Popular introduction to modern data analysis in the STATISTICA system. Textbook for universities. Moscow: Hotline-Telecom, 2013. 288 p. (In Russ.)]
2. Воронин С.В., Черкашин Д.В., Бершева И.В. Полиморбидность: определение, классификации, распространенность, методы оценки и практическое значение // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2018. Т. 20, № 4. С. 243–249. [Voronin S.V., Cherkashin D.V., Bersheva I.V. Polymorbidity: definition, classifications, prevalence, estimation methods and practical significance. *Vestnik Rossiiskoi Voenno-meditsinskoi akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy*, 2018, vol. 20, no. 4, pp. 243–249. (In Russ.)]
3. Крюков А.И., Казакова А.А., Гехт А.Б. Нарушение обоняния у больных COVID-19: механизмы и клиническое значение // Вестник оториноларингологии. 2020. Т. 85, № 5. С. 93–97. [Kryukov A.I., Kazakova A.A., Guekht A.B. Smell impairment in COVID-19 patients: mechanisms and clinical significance. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*, 2020, vol. 85, no. 5, pp. 93–97. (In Russ.)] doi: 10.17116/otorino20208505193
4. Al Hussain O. Clinical characteristics and Co-morbidities among patients admitted with COVID-19. *Ann. Med. Surg. (Lond.)*, 2022, no. 78: 103898. doi: 10.1016/j.amsu.2022.103898
5. Bienvenu L.A., Noonan J., Wang X., Peter K. Higher mortality of COVID-19 in males: sex differences in immune response and cardiovascular comorbidities. *Cardiovasc Res.*, 2020, vol. 116, no. 14, pp. 2197–2206. doi: 10.1093/cvr/cvaa284
6. Cheng L., Li H., Li L., Liu C., Yan S., Chen H., Li Y. Ferritin in the coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2020, vol. 34, no. 10: e23618. doi: 10.1002/jcla.23618
7. Corona G., Pizzocaro A., Vena W., Rastrelli G., Semeraro F., Isidori A.M., Pivonello R., Salonia A., Sforza A., Maggi M. Diabetes is most important cause for mortality in COVID-19 hospitalized patients: Systematic review and meta-analysis. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2021, vol. 22, no. 2, pp. 275–296. doi: 10.1007/s11154-021-09630-8
8. Genç Yavuz B., Colak S., Guven R., Altundag İ., Seyhan A.U., Gunay Inanc R. Clinical features of the 60 years and older patients infected with 2019 novel coronavirus: can we predict mortality earlier? *Gerontology*, 2021, vol. 67, no. 4, pp. 433–440. doi: 10.1159/000514481
9. Guha M., Mackman N. The phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway limits lipopolysaccharide activation of signaling pathways and expression of inflammatory mediators in human monocytic cells. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, no. 35, pp. 32124–32132. doi: 10.1074/jbc.M203298200
10. Gulmen S., Kiris I., Kocyigit A., Dogus D.K., Ceylan B.G., Meteoglu I. β-Glucan protects against lung injury induced by abdominal aortic ischemia-reperfusion in rats. *J. Surg. Res.*, 2010, vol. 164, no. 2: e325–332. doi: 10.1016/j.jss.2010.08.013
11. Hetland G., Johnson E., Bernardshaw S.V., Grinde B. Can medicinal mushrooms have prophylactic or therapeutic effect against COVID-19 and its pneumonic superinfection and complicating inflammation? *Scand. J. Immunol.*, 2021, vol. 93, no. 1: e12937. doi: 10.1111/sji.12937
12. Huang I., Pranata R. Lymphopenia in severe coronavirus disease-2019 (COVID-19): systematic review and meta-analysis. *J. Intensive. Care.*, 2020, no. 8: 36. doi: 10.1186/s40560-020-00453-4
13. Khodeir M.M., Shabana H.A., Alkhamiss A.S., Rasheed Z., Alsoghair M., Alsagaby S.A., Khan M.I., Fernández N., Al Abdulmonem W. Early prediction keys for COVID-19 cases progression: a meta-analysis. *J. Infect. Public. Health.*, 2021, vol. 14, no. 5, pp. 561–569. doi: 10.1016/j.jiph.2021.03.001
14. Kwok S., Adam S., Ho J.H., Iqbal Z., Turkington P., Razvi S., Le Roux C.W., Soran H., Syed A.A. Obesity: a critical risk factor in the COVID-19 pandemic. *Clin. Obes.*, 2020, vol. 10, no. 6: e12403. doi: 10.1111/cob.12403
15. Murphy E.J., Rezoagli E., Major I., Rowan N.J., Laffey J.G. β-Glucan Metabolic and Immunomodulatory Properties and Potential for Clinical Application. *J. Fungi (Basel)*, 2020, vol. 6, no. 4: 356. doi: 10.3390/jof6040356
16. Netea M.G., Joosten L.A., Latz E., Mills K.H., Natoli G., Stunnenberg H.G., O'Neill L.A., Xavier R.J. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science*, 2016, vol. 352, no. 6284: aaf1098. doi: 10.1126/science.aaf1098
17. Pasnik J., Ślęmp A., Cywinska-Bernas A., Zeman K., Jesenak M. Preventive effect of pleuran (β-glucan from *Pleurotus ostreatus*) in children with recurrent respiratory tract infections — open-label prospective study. *Curr. Pediatr. Res.*, 2017, vol. 21, no. 1, pp. 99–104.
18. Patel U., Malik P., Shah D., Patel A., Dhamoon M., Jani V. Pre-existing cerebrovascular disease and poor outcomes of COVID-19 hospitalized patients: a meta-analysis. *J. Neurol.*, 2021, vol. 268, no. 1, pp. 240–247. doi: 10.1007/s00415-020-10141-w

19. Pepera G., Tribali M.S., Batalik L., Petrov I., Papatthanasious J. Epidemiology, risk factors and prognosis of cardiovascular disease in the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pandemic era: a systematic review. *Rev. Cardiovasc. Med.*, 2022, vol. 23, no. 1: 28. doi: 10.31083/j.rcm2301028
20. Ponti G., Maccacferri M., Ruini C., Tomasi A., Ozben T. Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 2020, vol. 57, no. 6, pp. 389–399. doi: 10.1080/10408363.2020.1770685
21. Preethy S., Raghavan K., Dedeepiya V.D., Surya Prakash V., Ikewaki N., Ikeue Y., Nagataki M., Iwasaki M., Senthilkumar R., Abraham S.J.K. Beneficial immune regulation by biological response modifier glucans in COVID-19 and their envisaged potentials in the management of sepsis. *Front. Immunol.*, 2022, no. 13: 870632. doi: 10.3389/fimmu.2022.870632
22. Purohit D., Ahirwar A.K., Sakarde A., Asia P., Gopal N. COVID-19 and lung pathologies. *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.*, 2021, vol. 42, no. 4, pp. 435–443. doi: 10.1515/hmbci-2020-0096
23. Pushkala S., Seshayyan S., Theranirajan E., Sudhakar D., Raghavan K., Dedeepiya V.D., Ikewaki N., Iwasaki M., Preethy S., Abraham S.J. Efficient control of IL-6, CRP and ferritin in COVID-19 patients with two variants of Beta1,3–1,6 glucans in combination, within 15 days in an open-label prospective clinical trial. *medRxiv*, 2021: 21267778.10.1101/2021.12.14.21267778
24. Raghavan K., Dedeepiya V.D., Suryaprakash V., Rao K.S., Ikewaki N., Sonoda T., Levy G.A., Iwasaki M., Senthilkumar R., Preethy S., Abraham S.J. Beneficial effects of novel aureobasidium pullulans strains produced beta-1,3-1,6 glucans on interleukin-6 and D-dimer levels in COVID-19 patients; results of a randomized multiple-arm pilot clinical study. *Biomed. Pharmacother.*, 2022, no. 145: 112243. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112243
25. Rennerova Z., Picó Sirvent L., Carvajal Roca E., Pašnik J., Logar M., Milošević K., Majtan J., Jesenak M. Beta-(1,3/1,6)-D-glucan from *Pleurotus ostreatus* in the prevention of recurrent respiratory tract infections: an international, multicentre, open-label, prospective study. *Front. Pediatr.*, 2022, no. 10: 999701. doi: 10.3389/fped.2022.999701
26. Rizk J.G., Kalantar-Zadeh K., Mehra M.R., Lavie C.J., Rizk Y., Forthal D.N. Pharmaco-Immunomodulatory Therapy in COVID-19. *Drugs*, 2020, vol. 80, no. 13, pp. 1267–1292. doi: 10.1007/s40265-020-01367-z
27. Spinou A., Birring S.S. An update on measurement and monitoring of cough: what are the important study endpoints? *J. Thorac. Dis.*, 2014, vol. 6 (suppl. 7), pp. S728–S734. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.10.08
28. Wang J., Li Q., Yin Y., Zhang Y., Cao Y., Lin X., Huang L., Hoffmann D., Lu M., Qiu Y. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps in COVID-19. *Front. Immunol.*, 2020, no. 11: 2063. doi: 10.3389/fimmu.2020.02063
29. Wang L. C-reactive protein levels in the early stage of COVID-19. *Med. Mal. Infect.*, 2020, vol. 50, no. 4, pp. 332–334. doi: 10.1016/j.medmal.2020.03.007
30. Wu S.J., Chen Y.W., Wang C.Y., Shyu Y.T. Anti-inflammatory properties of high pressure-assisted extracts of *Grifola frondosa* in lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 macrophages. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2017, vol. 52, no. 3, pp. 671–678. doi: 10.1111/ijfs.13320
31. Xu P., Zhou Q., Xu J. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. *Ann. Hematol.*, 2020, vol. 99, no. 6, pp. 1205–1208. doi: 10.1007/s00277-020-04019-0
32. Zhang L., Yan X., Fan Q., Liu H., Liu X., Liu Z., Zhang Z. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. *J. Thromb. Haemost.*, 2020, vol. 18, no. 6, pp. 1324–1329. doi: 10.1111/jth.14859

Авторы:

Безрукова Е.В., к.м.н, доцент, доцент кафедры оториноларингологии ФБГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;
Воробейчиков Е.В., к.м.н. старший научный сотрудник ООО «Полифарм», Санкт-Петербург, Россия;
Конусова В.Г., к.м.н, ведущий научный сотрудник ООО «Полифарм», Санкт-Петербург, Россия;
Симбирцев А.С., член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией медицинской биотехнологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Артюшкин С.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой оториноларингологии ФБГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;
Шатый Н.О., аспирант кафедры оториноларингологии ФБГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Bezrukova E.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Otorhinolaryngology Department, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Vorobeychikov E.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, LLC “Polypharm”, St. Petersburg, Russian Federation;
Konusova V.G., PhD (Medicine), Leading Researcher, LLC “Polypharm”, St. Petersburg, Russian Federation;
Simbirtsev A.S., RAS Corresponding Member, DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Medical Biotechnology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Professor of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Artyushkin S.A., DSc (Medicine), Professor, Head of the Otorhinolaryngology Department, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Shaty N.O., PhD Student, Otorhinolaryngology Department, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 07.11.2023
 Отправлена на доработку 16.05.2024
 Принята к печати 02.11.2024

Received 07.11.2023
 Revision received 16.05.2024
 Accepted 02.11.2024

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РОССИИ

И.Н. Лаврентьева, А.Ю. Антипова, Н.В. Железнова

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

Резюме. В статье проанализировано распространение парвовирусной В19 инфекции в Северо-Западном федеральном округе в период с 2018 по 2023 гг. Было показано, что случаи инфекции регистрировали на 10 из 11 территорий, за исключением Ненецкого автономного округа. В целом IgM-антитела к парвовирусу В19 (PV В19) были выявлены в 295 образцах из 2079 исследованных (14,1%). Распространенность парвовирусной В19 инфекции варьировала по годам исследования: в 2023 г. в СЗФО был выявлен подъем заболеваемости, с показателем 0,93 на 100 тыс. населения, что достоверно превышало среднемноголетний уровень, равный 0,43 на 100 тыс. населения округа. В возрастной структуре заболевших преобладали дети и подростки. Наиболее активно вирус циркулировал в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, что обусловлено высокой плотностью населения на этих территориях, и множеством муниципальных учреждений, где имеют место длительные тесные контакты между людьми. Подтверждена зимне-весенняя сезонность инфекции. Анализ первичных диагнозов у больных с лабораторно подтвержденной ПВИ (2022 г.), показал, что правильный клинический диагноз не был установлен ни в одном случае. Наиболее частыми ошибками клинической диагностики были «ОРВИ», «Корь» и «Краснуха», герпесвирусные инфекции. В 30% случаев ПВИ оценивалась клиницистами как не инфекционное заболевание. Ошибки первичной диагностики парвовирусной инфекции могут способствовать распространению инфекции, в том числе в группах риска. Так, при проведении обследования пациентов диализного центра лабораторными методами установлена скрытая циркуляция парвовируса В19 в данной группе риска. Это было подтверждено обнаружением ДНК РVВ19 и вирусспецифических IgM-антител в части исследованных образцов. Установленная среди пациентов серопревалентность, не превышавшая 76,9%, определяет возможность распространения инфекции среди серонегативных к парвовирусу В19 пациентов, с отягощенным течением и прогнозом основного заболевания. При выявлении среди лиц из групп риска и/или из организованных коллективов инфекционных заболеваний и болезней органов дыхания, протекающих с неясными экзантемными проявлениями, учитывая широкое распространение парвовирусной инфекции, целесообразно проводить направленный серологический мониторинг на лабораторные маркеры ПВИ. Одним из направлений дальнейшего качественного изучения парвовирусной инфекции является решение проблемы ее выявления и учета в системе эпидемиологического надзора.

Ключевые слова: парвовирусная инфекция, распространенность, Северо-Запад России, группы риска, клиническая диагностика, лабораторные маркеры.

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., Антипова А.Ю., Железнова Н.В. Распространение парвовирусной инфекции в Северо-Западном федеральном округе России // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1221–1226.
doi: 10.15789/2220-7619-POP-17798

Citation:

Lavrentieva I.N., Antipova A.Yu., Zheleznova N.V. Prevalence of parvovirus infection in the Northwestern federal district of Russia // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1221–1226. doi: 10.15789/2220-7619-POP-17798

PREVALENCE OF PARVOVIRUS INFECTION IN THE NORTHWESTERN FEDERAL DISTRICT OF RUSSIA

Lavrentieva I.N., Antipova A.Yu., Zheleznova N.V.

St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

Abstract. Here, we analyze the spread of parvovirus B19 infection in the Northwestern Federal District from the years 2018 to 2023. It was shown that cases of infection were recorded in 10 out of 11 territories, excepting the Nenets Autonomous Okrug. Overall, IgM antibodies to parvovirus B19 (B19V) were detected in 295 samples out of 2079 tested (14.1%). The prevalence of parvovirus B19 infection varied over the years of the study: in 2023, an increase in incidence was detected in the Northwestern Federal District, with an indicator of 0.93 per 100 thousand population, which significantly exceeded the long-term average level of 0.43 per 100 thousand population in the district. Children under 14 years of age predominated in the age pattern. The virus circulated most actively in St. Petersburg and the Leningrad region, which is due to the high population density in these territories and the many municipal institutions where long-term close contacts between people take place. The winter-spring seasonality of the infection has been confirmed. An analysis of primary diagnoses in patients with laboratory-confirmed parvovirus infection (2022) showed that the correct clinical diagnosis was not established in any case. The most common clinical diagnostic errors were: “Acute respiratory infection”; “Measles” and “Rubella”; herpes virus infections. In 30% of cases, parvovirus B19 infection was assessed by clinicians as a non-infectious disease. Errors in the initial diagnosis of parvovirus infection can contribute to the spread of infection, including in risk groups. Thus, while examining patients at a dialysis center, laboratory methods revealed latent parvovirus B19 circulation in this risk group confirmed by the detection of B19V DNA and virus-specific IgM antibodies in some samples tested. The seroprevalence established among patients not exceeding 76.9% accounts for an opportunity of infection spread among patients seronegative for parvovirus B19 with worsening of disease course and prognosis. Considering the widespread distribution of parvovirus infection, when identifying infectious diseases and respiratory diseases that occur with unclear exanthema manifestations among people at risk and/or from organized groups, it is advisable to conduct targeted serological monitoring for laboratory markers of parvovirus B19 infection. One of the directions for further qualitative study of parvovirus infection is to solve an issue of its identification and recording in the epidemiological surveillance system.

Key words: parvovirus infection, prevalence, North-West Russia, risk groups, clinical diagnostics, laboratory markers.

Введение

Парвовирусная В19 инфекция (ПВИ) включает в себя широкий спектр заболеваний человека: от легкой экзантемы — инфекционной эритемы, встречающейся преимущественно в детском возрасте, до тяжелых стойких артритов и артралгий, миокардитов и гепатитов. Медицинская значимость ПВИ обусловлена свойствами возбудителя — парвовируса В19, характеризующегося высоким тропизмом к эритроидным клеткам-предшественникам, а также тератогенным действием. С инфицированием парвовирусом В19 могут быть связаны такие серьезные симптомы как нарушение выработки эритроцитов вплоть до апластического криза с гибелью больного, а при инфицировании во время беременности — развитие водянки плода. Парвовирусная инфекция может оказывать выраженное патологическое воздействие практически на каждую систему организма человека при инфицировании лиц с иммунодефицитными состояниями [6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

Несмотря на невысокую контагиозность (рассчитанный индекс составляет от 15 до 30%), распространению инфекции способствуют три

пути передачи вируса: воздушно-капельный, трансплацентарный и гемотрансфузионный, а также большое количество инаппарантных форм (у взрослых около 80% инфекции протекает бессимптомно).

Несмотря на очевидную медицинскую значимость, сведения о распространении ПВИ в разных регионах мира весьма ограничены из-за отсутствия регистрации инфекции во многих странах мира, включая РФ.

Внимание к парвовирусной инфекции в РФ повысилось в связи с реализацией Программы ВОЗ по элиминации кори/краснухи в глобальном масштабе, когда была выдвинута задача лабораторного обследования больных с экзантемными проявлениями инфекционного процесса в рамках активного надзора за корью. Инфекционная эритема оказалась одной из основных ошибок первичной диагностики кори и краснухи на территориях Северо-Западного федерального округа. Таким образом ранее была установлена циркуляция парвовируса В19 на Северо-Западе России в период 2008–2017 гг. [2, 4, 6, 8]. Настоящее исследование посвящено оценке распространения парвовирусной инфекции в СЗФО РФ в современный период.

Материалы и методы

Были исследованы 2079 сывороток крови, полученных в период 2018–2023 гг. от больных с экзантемными проявлениями инфекционного процесса и лихорадкой, проживающих на территориях СЗФО. Сыворотки были получены и хранились в коллекции вирусологической лаборатории Регионального центра по надзору за корью в СЗФО РФ. Лабораторным подтверждением случая парвовирусной инфекции считали обнаружение в образцах крови специфических IgM-антител к парвовирусу B19. В работе использовали ИФА тест-системы «Anti-Parvovirus B19 ELISA (IgM)» и «Anti-Parvovirus B19 ELISA (IgG)» (Euroimmune, Германия), которые применялись в соответствии с инструкциями производителя. Экстракцию ДНК из плазмы крови проводили, используя коммерческий набор «АмплиПрайм Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва), согласно инструкции производителя. Выявление и/или количественное определение ДНК PV B19, проводили методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» на коммерческом наборе «АмплиСенс® Parvovirus B19-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно инструкции производителя в качественном или количественном формате. Распространенность, среднесезонный уровень заболеваемости (за шесть лет) и индекс сезонности парвовирусной инфекции рассчитывали общепринятыми эпидемиологическими методами [7]. Статистическую обработку результатов проводили, используя пакет программ MS Excel, Prizm 5.0 (GraphPad Software Inc). Сравнение номинальных данных проводилось при помощи t-критерия. Порог достоверности отличий определяли с вероятностью $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В период с 2018 по 2023 гг. парвовирусная инфекция ежегодно выявлялась на территориях СЗФО (табл.). В целом IgM-антитела к парвовирусу B19 выявлены в 295 образцах из 2079 исследованных (14,1%).

Распространенность ПВИ варьировала от показателя 0,16 до 0,93 на 100 тыс. населения в 2018 г. и 2023 г. соответственно (табл. 1). То есть в 2023 г. был выявлен подъем заболеваемости ПВИ с СЗФО, достоверно превышавший ($p < 0,05$) среднесезонный уровень, равный 0,43 на 100 тыс. населения округа. Не было выявлено достоверного снижения показателя распространенности ПВИ в 2019–2020 гг. — периоде проведения карантинных мероприятий, направленных на ограничение распространения новой коронавирусной инфекции, несмотря на то что основным механизмом передачи ПВИ — воздушно-капельный, что, видимо, можно объяснить преимущественным распространением инфекции в семьях, или среди лиц, находящихся на особых условиях проживания.

В период наблюдения парвовирусная инфекция выявлялась на десяти из одиннадцати территорий Северо-Запада России, за исключением Ненецкого автономного округа. Наибольшее количество — в целом более 42% от общего числа случаев — стабильно регистрировали в Санкт-Петербурге и Ленинградской области (12,2%), что соответствует сведениям, полученным нами ранее [4]. На этих территориях, а также в Вологодской и Калининградской областях были выявлены семейные очаги ПВИ.

Следует отметить, что в отличие от периода 2008–2017 гг., когда территориально ПВИ имела существенно большее распространение на приграничных территориях (Республика Карелия,

Таблица. Случаи и распространенность парвовирусной инфекции в СЗФО в период с 2018 по 2023 гг.
Table. Cases and prevalence of parvovirus infection in the Northwestern Federal District from 2018 to 2023

Годы Years	Распределение IgM-положительных к PV B19 сывороток в 2018–2023 гг. Distribution of IgM-positive B19V sera in 2018–2023		Распространенность ПВИ на 100 тыс. населения округа Prevalence of PVI per 100 000 population of the district
	общее число исследованных сывороток крови/из них IgM+ total number of blood sera studied/ of which IgM+	доля IgM+ образцов, % (M±m) proportion of IgM+ samples, % (M±m)	
2018	342/22	6,4±1,32	0,16
2019	341/36	10,6±1,67	0,26
2020	281/25	8,9±1,69	0,18
2021	278/38	13,7±2,06	0,27
2022	332/46	13,9±1,89	0,33
2023	505/128	25,3±1,94	0,93
Итого/Total	2079/295	14,1±1,78	
Среднесезонный показатель/Average longterm indicator			0,43

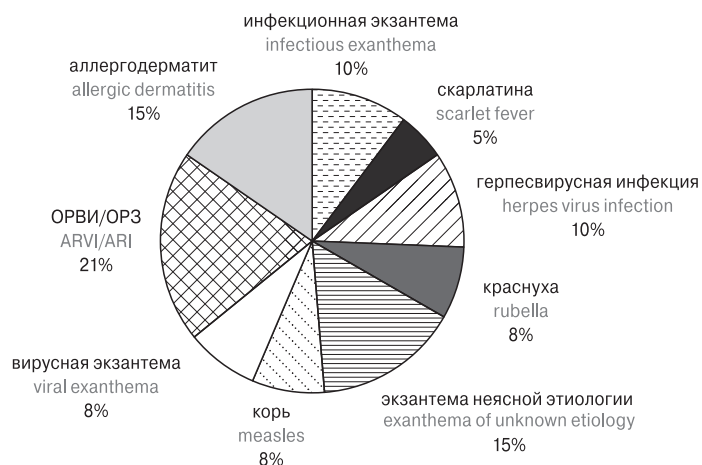


Рисунок. Первичные клинические диагнозы у пациентов с лабораторно установленной парвовирусной В19 инфекцией

Figure. Primary clinical diagnoses in patients with laboratory-determined parvovirus B19 infection

Мурманская, Калининградская, Ленинградская области) [4], в период 2018–2023 гг. по частоте выявления случаев ПВИ за Санкт-Петербургом и Ленинградской областью следовали Вологодская и Новгородская области: 12,1% и 8,7% от общего числа IgM-положительных к РVВ19 образцов. В республиках Коми и Карелия документировано 18 и 14 случаев ПВИ, что составило 6,1% и 4,7% соответственно. Можно предположить, что изменение территориального распределения парвовирусной инфекции в СЗФО связано со снижением туристических потоков в страны Северной Европы в настоящее время. Сохранение активной циркуляции парвовируса В19 в мегаполисе и прилегающей области обусловлено высокой плотностью населения, множеством образовательных, медицинских, учебных и др. учреждений, где имеют место длительные тесные контакты между людьми. В возрастной структуре заболевших несущественно преобладали дети и подростки — 58% всех случаев регистрировали среди лиц до 19 лет.

Преимущественное распространение ПВИ имела в период с января по май (ежегодно более 64% случаев), что соответствует характеристике ПВИ как заболевания с зимне-весенней сезонностью. Индекс сезонности в 2023 г. составил 77,7%.

Анализ первичных диагнозов у больных с лабораторно подтвержденной ПВИ, проведенный в 2022 г., показал, что правильный клинический диагноз не был установлен ни в одном случае (рис.).

Наиболее частым ошибочным клиническим диагнозом была «ОРВИ» — 21,0% от всех лабораторно выявленных случаев ПВИ. В 8% случаев больным был ошибочно поставлен первичный диагноз «Корь» или «Краснуха». Также парвовирусную В19 инфекцию выявляли в 10% случаев при подозрении на герпесвирусные

инфекции (инфекционный мононуклеоз и ветряная оспа); в такой же доле случаев ПВИ обнаружена у больных с клиническим диагнозом «Инфекционная экзантема». Антитела IgM-РVВ19 были обнаружены в 30% образцов, в направлениях к которым было указано: «Экзантема неясной этиологии» и «Аллергическая сыпь/аллергодерматит». То есть примерно в трети случаев ПВИ оценивалась клиницистами как заболевание не инфекционное, а соматическое, не требующее проведения противоэпидемических мероприятий.

Ошибки первичной диагностики парвовирусной инфекции могут способствовать распространению инфекции в группах риска. К таковым относятся, в частности, пациенты с заболеваниями почек, находящиеся на гемодиализе и получающие иммуносупрессивную терапию. Выполненное в 2022 г. лабораторное обследование 78 пациентов отделения гемодиализа на лабораторные маркеры парвовирусной В19 инфекции показало, что IgG-антитела к парвовирусу В19 имели 76,9% пациентов диализного центра, что соответствует уровню серопревалентности популяции в целом. Важно отметить, что образцах крови у четырех пациентов была обнаружена ДНК РVВ19; в одном случае были выявлены иммуноглобулины класса М, без клинических проявлений ПВИ. Полученные результаты свидетельствуют об имевшей место скрытой циркуляции вируса среди данной группы пациентов, а невысокая серопревалентность может способствовать дальнейшему распространению вируса в этой группе риска, что может отягощать течение основного заболевания.

Таким образом, парвовирус В19 продолжает циркулировать на территориях СЗФО, в наибольшей степени на территориях с высокой плотностью населения и активными социаль-

ными контактами. Истинный уровень распространенности парвовирусной инфекции в регионе безусловно выше, чем установлено в рамках данной работы, поскольку материал для исследования соответствовал критериям отбора клинических образцов для лабораторной диагностики кори и краснухи, а именно, взятие крови производилось от больных с макуло-папулезной сыпью и температурой тела больного выше 37,5°C. В то время как для парвовирусной инфекции характерно преобладание бессимптомных или стертых форм, без сыпи и лихорадки. Этой особенностью инфекции объясняются ошибки клинической диагностики ПВИ, составившие в 2022 г. 100% проанализированных случаев. Отсутствие учета заболева-

емости парвовирусной инфекции с лабораторным подтверждением диагноза способствует ее распространению, в том числе в группах риска, что может приводить к отягощению течения и прогноза основного заболевания [1, 2, 6, 14]. Следовательно, при выявлении среди лиц из групп риска и/или из организованных коллективов инфекционных заболеваний и болезней органов дыхания, протекающих с неясными экзантемными проявлениями, целесообразно проводить направленный серологический мониторинг на лабораторные маркеры ПВИ.

Одним из направлений дальнейшего качественного изучения парвовирусной инфекции является решение проблемы ее выявления и учета в системе эпидемиологического надзора.

Список литературы/References

1. Антипова А.Ю., Дробышевская В.Г., Хамитова И.В. Случай парвовирусной B19 инфекции и иммунодефицитного состояния у пациента с синдромом Жильбера // Медицинская иммунология. 2021. Т. 23, № 5. С. 1177–1182. [Antipova A.Yu., Drobyshevskaya V.G., Khamitova I.V. Case of parvovirus B19 infection and immunodeficiency in the patient with Gilbert syndrome. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2021, vol. 23, no. 5, pp. 1177–1182. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-COP-2325]
2. Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Хамитова И.В., Никишов О.Н., Кузин А.А. Маркеры парвовирусной инфекции у лиц с экзантемными заболеваниями и в группах риска // Журнал инфектологии. 2019. Т. 11, № 3. С. 110–117. [Lavrentieva I.N., Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Khamitova I.V., Nikishov O.N., Kuzin A.A. Parvovirus infection markers in persons with exanthematic diseases and in risk groups. *Zhurnal infektologii = Journal Infectology*, 2019, vol. 11, no. 3, pp. 110–117. (In Russ.) doi: 10.22625/2072-6732-2019-11-3-110-117]
3. Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю. Парвовирус B19 человека: характеристика возбудителя, распространение, диагностика обусловленной им инфекции // Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 4. С. 311–322. [Lavrentyeva I.N., Antipova A.Yu. Human parvovirus B19: virus characteristics, distribution and diagnostics of parvovirus infection. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, vol. 3, no. 4, pp. 311–322. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-2013-4-311-322]
4. Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Никишов О.Н., Железнова Н.В., Кузин А.А. Выявление случаев парвовирусной инфекции в системе эпидемиологического надзора за экзантемными заболеваниями // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 3. С. 219–224. [Lavrentyeva I.N., Antipova A.Y., Bichurina M.A., Nikishov O.N., Zheleznova N.V., Kuzin A.A. Detection of cases of parvovirus infection in the system for epidemiological surveillance of exanthematic diseases. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2016, vol. 6, no. 3, pp. 219–224. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-2016-3-219-224]
5. Никишов О.Н., Кузин А.А., Антипова А.Ю., Лаврентьева И.Н., Мальцев О.В., Козлов К.В., Антоничев Е.А., Никишов С.Н., Сигидаев А.С. Атипичное течение парвовирусной B19 инфекции при сочетанном инфицировании (клиническое наблюдение) // Журнал инфектологии. 2023. Т. 15, № 1. С. 126–133. [Nikishov O.N., Kuzin A.A., Antipova A.Yu., Lavrentieva I.N., Maltsev O.V., Kozlov K.V., Antonichev E.A., Nikishov S.N., Sigidaev A.S. Atypical course of parvovirus B19 infection with combined infection (clinical observation). *Zhurnal infektologii = Journal Infectology*, 2023, vol. 15, no. 1, pp. 126–133. (In Russ.) doi: 10.22625/2072-6732-2023-15-1-126-133]
6. Никишов О.Н., Кузин А.А., Зобов А.Е., Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю., Останкова Ю.В., Хамитова И.В., Никишов О.Н. Результаты исследования распространенности и активности циркуляции парвовируса B19 (Parvoviridae, Parvovirinae, Erythroparvovirus, Primate erythroparvovirus 1 среди социально значимых категорий населения // Вопросы вирусологии. 2020. Т. 65, № 3. С. 143–149. [Nikishov O.N., Kuzin A.A., Zobov A.E., Lavrentieva I.N., Antipova A.Y., Ostankova Yu.V., Khamitova I.V., Nikishov S.N. Results of a study of parvovirus B19 (Parvoviridae, Parvovirinae, Erythroparvovirus, Primate erythroparvovirus 1) prevalence and circulation activity in socially significant categories of the population. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2020, vol. 65, no. 3, pp. 143–149. (In Russ.) doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-3-143-149]
7. Слободенюк А.В., Косова А.А., Ан Р.Н. Эпидемиологический анализ: учебное пособие. Екатеринбург: Издательство ГБОУ ВПО УГМУ МЗ РФ, 2015. 36 с. [Slobodenyuk A.V., Kosova A.A., An R.N. Epidemiological analysis: training manual. *Ekaterinburg: Publishing house of Ural State Medical University*, 2015. 36 p. (In Russ.)]
8. Хамитова И.В., Останкова Ю.В., Антипова А.Ю., Семенов А.В., Лаврентьева И.Н. Молекулярно-генетическая характеристика изолятов парвовируса B19, циркулирующих на территории Северо-Западного федерального округа // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2018. Т. 95, № 6. С. 55–66. [Khamitova I.V., Ostankova Yu.V., Antipova A.Y., Semenov A.V., Lavrentieva I.N. Molecular-genetic characteristics of parvovirus B19 isolates circulating in the North-Western Federal district. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2018, vol. 95, no. 6, pp. 55–66. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-2018-6-55-61]
9. Чернова Т.М., Дубко М.Ф. Парвовирус B19 как причина кардита в сочетании с миозитом // Медицинский совет. 2018. № 2. С. 190–193. [Chernova T.M., Dubko M.F. Parvovirus B19 as a cause of carditis in combination with myositis. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2018, no. 2, pp. 190–193. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2018-2-190-193]

10. Douvoyiannis M., Litman N., Goldman D.L. Neurologic manifestations associated with parvovirus B19 infection. *Clin. Infect. Dis.*, 2009, vol. 48, no. 12, pp. 1713–1723. doi: 10.1086/599042
11. Izquierdo-Blasco J., Allende M.T.S., Grau M.G.C., Gran F., Sáez E.M., Balcells J. Parvovirus B19 myocarditis: looking beyond the heart. *Pediatr. Dev. Pathol.*, 2020, vol. 23, no. 2, pp. 158–162. doi: 10.1177/1093526619865641
12. Katz V.L., Chescheir N.C., Bethea M. Hydrops fetalis from B19 parvovirus infection. *J. Perinatol.*, 1990, vol. 10, no. 4, pp. 366–368.
13. Kishore J., Kishore D. Fatal missed case of hemophagocytic lymphohistiocytosis co-infected with parvovirus B19 and Epstein–Barr virus in an infant: test hyperferritinaemia early. *Indian J. Med. Microbiol.*, 2014, no. 32, pp. 181–183. doi: 10.4103/0255-0857.129819
14. Lavrentyeva I.N., Khamitova I.V., Slita A.V., Levkovski A.E., Diallo A.A., Diallo A.K., Sow T.C., Naydenova E.V., Agafonov D.A., Senichkina A.M. Impact of coinfection of PVB19 on the course and prognosis of malaria caused by Plasmodium falciparum. *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 383–387. doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-383-387 doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-383-387
15. Toan N.L., Sy B.T., Song L.H., Luong H.V., Binh N.T., Binh V.Q., Kandolf R., Velavan T.P., Kremsner P.G., Bock C.T. Co-infection of human parvovirus B19 with Plasmodium falciparum contributes to malaria disease severity in Gabonese patients. *BMC Infect. Dis.*, 2013, vol. 13: 375. doi: 10.1186/1471-2334-13-375

Авторы:

Лаврентьева И.Н., д.м.н., ведущий научный сотрудник, зав. отделом вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Антипова А.Ю., к.б.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Железнова Н.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Lavrentieva I.N., DSc (Medicine), Leading Researcher, Head of the Virology Department, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Antipova A.Yu., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Zheleznova N.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Viral Hepatitis, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 25.10.2024
Принята к печати 15.11.2024

Received 25.10.2024
Accepted 15.11.2024

COMPARISON OF MALDI-ToF MASS SPECTROMETRY IDENTIFICATION ACCURACY OF *MYCOBACTERIUM ABSCESSUS* COMPLEX STRAINS, ISOLATED ON VARIOUS NUTRIENT MEDIA

D.V. Alekseev, E.A. Kargina, D.A. Kokorev, A.M. Kovalyov, E.A. Borodulina, A.V. Lyamin, D.D. Ismatullin

Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

Abstract. *Background.* *Mycobacterium abscessus* complex is one of the most abundant groups of rapidly growing non-tuberculous mycobacteria that has been increasingly more common causing infections of various localization, especially in cystic fibrosis (CF) patients. Microbiological diagnosis of such infections in case of using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-ToF) mass spectrometry is often complicated due to mycobacterial cell features, which requires to perform a diagnostic optimization. The aim of the study was to evaluate the accuracy of *Mycobacterium abscessus* strains identification isolated on universal chromogenic medium and selective medium for *Burkholderia cepacia* complex (BCC) isolation. *Materials and methods.* Total number of 64 strains were selected for the study cultured in parallel on universal chromogenic medium and selective medium for BCC isolation. The identification of isolated microorganisms was carried out using the MALDI-ToF mass spectrometry on Microflex LT device. Statistical data processing was carried out using the StatTech program v.2.1.0. *Results.* The correlation analysis between identified data and used nutrient media was carried out showing that identification of mycobacteria isolated on chromogenic medium vs. medium for BCC isolation was more accurate. *Conclusion.* The study revealed that the composition of the nutrient medium affects the accuracy of MABSc member identification, which can be taken into account while developing protocols for optimizing and increasing the accuracy for this group of bacteria using MALDI-ToF mass spectrometry. Despite this, in the context of such a complex pathology with high comorbidity as CF, taking into account the universality of chromogenic medium we studied and often polymicrobial nature of infections in CF, it is rational to use selective media for primary inoculation of the studied material, including the medium for BCC isolation. However, after the initial inoculation, mycobacteria can be subcultured on chromogenic medium to assess cultural properties and improve the quality of species identification.

Key words: *Mycobacterium abscessus* complex, MABSc, MALDI-ToF mass spectrometry, non-tuberculosis mycobacteria cultivation, NTM, cystic fibrosis infections.

Адрес для переписки:

Кокорев Даниил Андреевич
443079, Россия, г. Самара, ул. Гагарина, 20,
ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский
университет Минздрава РФ.
Тел.: 8 (937) 068-94-86.
E-mail: d.a.kokorev@samsmu.ru

Contacts:

Daniil A. Kokorev
443079, Russian Federation, Samara, Gagarina str., 20,
Samara State Medical University.
Phone: +7 (937) 068-94-86.
E-mail: d.a.kokorev@samsmu.ru

Для цитирования:

Алексеев Д.В., Каргина Е.А., Кокорев Д.А., Ковалев А.М.,
Бородулина Е.А., Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д. Сравнение точности
MALDI-ToF масс-спектрометрической идентификации штаммов
Mycobacterium abscessus complex, выделенных на различных
питательных средах // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6.
С. 1227–1232. doi: 10.15789/2220-7619-COM-17650

Citation:

Alekseev D.V., Kargina E.A., Kokorev D.A., Kovalyov A.M., Borodulina E.A.,
Lyamin A.V., Ismatullin D.D. Comparison of MALDI-ToF mass spectrometry
identification accuracy of *Mycobacterium abscessus* complex strains,
isolated on various nutrient media // Russian Journal of Infection and
Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1227–1232.
doi: 10.15789/2220-7619-COM-17650

СРАВНЕНИЕ ТОЧНОСТИ MALDI-ToF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ШТАММОВ *MYCOBACTERIUM ABSCESSUS* COMPLEX, ВЫДЕЛЕННЫХ НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Алексеев Д.В., Каргина Е.А., Кокорев Д.А., Ковалев А.М., Бородулина Е.А., Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д.
ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия

Резюме. *Введение.* *Mycobacterium abscessus* complex — одна из наиболее распространенных групп быстрорастущих нетуберкулезных микобактерий. Эта группа микроорганизмов все чаще становится причиной инфекций различной локализации, особенно у пациентов с муковисцидозом (МВ). Микробиологическая диагностика таких инфекций при использовании матрично активированной лазерной десорбции-ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-ToF) часто затруднена из-за особенностей микобактериальных клеток, что вызывает необходимость оптимизации методики. Целью исследования стала оценка точности идентификации штаммов *Mycobacterium abscessus*, выделенных на универсальной хромогенной среде и на селективной среде для выделения *Burkholderia cepacia* complex (BCC). *Материалы и методы.* Для исследования было отобрано в общей сложности 64 штамма *Mycobacterium abscessus*. Все штаммы культивировали одновременно на универсальной хромогенной среде и на селективной среде для выделения BCC. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии на приборе Microflex LT. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы StatTech v.2.1.0. *Результаты.* Был проведен анализ корреляции между результатами идентификации и используемыми питательными средами. Анализ показал, что идентификация микобактерий, выделенных на хромогенной среде, была более точной, чем идентификация микобактерий, выделенных на среде для выделения BCC. *Заключение.* В ходе проведенного исследования было выявлено, что состав питательной среды влияет на точность идентификации представителей MABSc, что может учитываться при разработке протоколов оптимизации и повышения точности идентификации этой группы бактерий с помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии. Несмотря на это, в контексте такой сложной патологии с высокой коморбидностью, как МВ, учитывая универсальность исследованной нами хромогенной среды и зачастую полимикробный характер инфекций при МВ, рационально для первичного посева исследуемого материала использовать селективные среды, в том числе среду для выделения BCC. Однако после первичного посева микобактерии можно пересевать на хромогенную среду для оценки культуральных свойств и улучшения качества видовой идентификации.

Ключевые слова: *Mycobacterium abscessus* complex, MABSc, MALDI-ToF масс-спектрометрия, культивирование нетуберкулезных микобактерий, НТМ, инфекции при муковисцидозе.

Introduction

Non-tuberculous mycobacteria (NTM) [2] are representing a diverse group of saprophytic bacteria that live mainly in water and soil. They are increasingly becoming the cause of infections of various localization, especially in patients with concomitant structural changes of the respiratory tract. For example, with cystic fibrosis (CF) [3, 11].

Currently, in many medical centers, specializing on the treatment of CF patients, specialists face with the most common group of rapidly growing NTM, isolated from these patients — *Mycobacterium abscessus* complex (MABSc). The prevalence of these microorganisms is associated with their morphological features, which provide their resistance to many disinfectants. This fact causes their frequent isolation from hospitalized patients and makes a certain contribution to the structure of nosocomial infections [4].

MABSc along with slowly growing representatives of *Mycobacterium avium* complex, prevails in the structure of NTM infections in CF patients [6, 15]. According to the data of the «Register of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation» for 2021, depending on the patients age, the frequency of NTM infections is 0.3–2.5%.

There are several nutrient media recommended for the isolation of CF pathogens. NTM isolation is possible by using a selective medium for the isolation of *Burkholderia cepacia* complex (BCC), which is widely used when working with specimens from CF patients. In addition, it is possible to isolate rapidly growing NTM during cultivation on various universal agar media, such as blood agar with 5% defibrinated animal blood, chocolate agar or blood agar with nalidixic acid [1, 7, 10].

There are several approaches to determining the MABSc species, one of which is MALDI-ToF mass spectrometry. Initially, the use of MALDI-ToF mass spectrometry was limited to the identification of colonies, isolated on various selective media, for example, on the Löwenstein–Jensen medium. However, certain publications also contain information about the possibility of applying a widely used universal chromogenic medium [1].

The aim of the study was to evaluate the accuracy of the MABSc identification, depending on the nutrient media used — a universal chromogenic medium and a selective medium for BCC isolation.

As our studies shown, when comparing the results of MABSc identification, isolated on a Löwenstein–Jensen medium, with the MABSc identification,

which were isolated on a universal chromogenic medium, no statistically significant differences between the results were revealed [8]. At the same time, there is no information about the comparison of a universal chromogenic medium with a selective medium for the BCC isolation in the context of microbiological diagnosis in CF.

Undoubtedly, microbiological diagnosis plays an important role in the managing with respiratory complications in CF, since airway infections are the most common causes of death in CF patients. On the other hand, NTM are most abundant in older groups of patients. Taking into account the improvement of the medical care quality, the life expectancy of CF patients tends to increase. As a consequence, NTM prevalence in the population is also increasing. Therefore, the optimization of microbiological diagnosis (in particular, the rational use of nutrient media and identification methods) is an extremely important task for the successful management of infectious complications in CF [5, 13].

Materials and methods

Total number of 64 MABSc strains were selected for the study. From these strains, 56 strains were obtained from CF patients and 8 strains — from patients with pulmonary pathology (unrelated to CF).

All strains were cultured simultaneously on a universal chromogenic medium (HiMedia Laboratories LLC, India) and on a selective medium for the BCC isolation (HiMedia Laboratories LLC, India). Media were incubated for 24 hours at a temperature of 37°C, and then at 28°C in the following days of cultivation until the appearance of visible growth, necessary for identification.

It should be noted, that all strains obtained from CF patients were isolated during primary prolonged cultivation for up to 28 days on a medium for the BCC isolation, while strains obtained from patients with pulmonary pathology, unrelated to CF, were primarily isolated on a Löwenstein–Jensen medium.

The identification of isolated microorganisms was carried out using the MALDI-ToF mass spectrometry on a Microflex LT device (Bruker Daltonik GmbH, Germany). During identification, an extended direct application method was used, including applying 1 ml of 70% formic acid solution to a mass spectrometry target. After drying, a matrix for mass spectrometry (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) was applied.

The assessment of the identification results was carried out using MALDI Biotyper RTC software (Bruker Daltonik GmbH, Germany) according to the level of coincidence coefficient (Score) from 0 to 3. The level of 0.000–1.699 indicated identification of low reliability; the level of 1.700–1.999 indicated reliable identification to the genus; reliable identification to the species occurred at the level of 2.000–2.999 according to the manufacturer's recommendations.

During the study we perform a comparison of the results of MABSc identification between the main spectrum library, which contains the spectra of 2 *M. abscessus* strains, with the library of additional NTM spectra (Mycobacteria Library version 4.0, Bruker Daltonik GmbH, Germany), which contains 880 spectra of mycobacteria, 36 of which belong to *M. abscessus*.

Data grouping and calculations were performed using a Microsoft Excel 2016. Statistical processing of the obtained results was carried out using the StatTech program v.2.1.0 (Stattech LLC, Russia). Quantitative data were checked for compliance with the normal distribution law using the Shapiro–Wilk test. The obtained data was evaluated using nonparametric statistical methods, due to the non-compliance with the normal distribution law. Quantitative variables were represented as the median (Me), 25th and 75th percentiles [Q_{25} ; Q_{75}], qualitative indicators — in the form of an absolute number (n) and percentages (%). Mann–Whitney U-test was used for independent samples. The differences were considered significant at $p < 0.05$.

This study was approved by the Bioethics Committee of the Samara State Medical University with the Approval Number 196; October 31, 2018.

Results

At the beginning of our study, we analyzed the spectra of MABSc strains, isolated on medium for BCC isolation. The results showed that in the case of using the main library, for 9 (14%) strains it was not possible to determine the species and generic affiliation of bacteria.

For the assessment of the possibility of obtaining more accurate identification results, we analyzed the obtained peaks using a specialized library (Mycobacteria Library, version 4.0).

The identified strains, isolated on the selective BCC medium, were grouped according to the levels of identification reliability, which are presented in Table 1. As a result, species identification was detected for 2 strains both using main library and extended library.

Similarly, we divided the Score values for strains, isolated on universal chromogenic medium, into groups according to the levels of identification reliability (Table 2). It was possible to perform species

Table 1. Distribution of MABSc strains, isolated on BCC medium, in groups of identification reliability

Score values	Main library (strains number)	Mycobacteria library version 4.0 (strains number)
0.000–1.699	35	25
1.700–1.999	27	37
2.000–2.999	2	2

Table 2. Distribution of MABSс strains, isolated on universal chromogenic medium, in groups of identification reliability

Score values	Main library (strains number)	Mycobacteria library version 4.0 (strains number)
0.000–1.699	4	1
1.700–1.999	41	25
2.000–2.999	19	38

identification for 19 (29.7%) strains and 38 (59.4%) strains in the case of using the main and extended versions of the library, respectively.

The analysis of the correlation between identification results (according to the Score value) and the used nutrient medium when was also carried out (with using both libraries) (Fig.).

As it is shown in the figure, the analysis also revealed statistically significant differences ($p < 0.001$). Identification of MABSс strains, isolated on a chromogenic medium, in case of using the Mycobacteria Library version 4.0 was more accurate than identification of strains isolated on a medium for BCC isolation.

Discussion

The MALDI-ToF mass spectrometry has been in service with microbiological laboratories for quite a long period and has established itself as a reliable tool for identifying various microorganisms, including mycobacteria. The identification quality, during using this method, significantly depends on the composition of microbial cell, and mycobacteria are difficult group of pathogens in this regard.

Mycobacterial cells are complexly organized. This fact complicates the extraction of bacterial proteins and affects the quality of the identification with MALDI-ToF mass spectrometry. It is widely known that the outer membrane of these cells consists of mycolic acid, arabinogalactan, glycopeptidolipids, trehalose-6,6-dimicolate, trehalose monomicolate, trehalose polypleates and phosphatidyl-myo-inositol dimannoside [12]. All these high-molecular and complex organic substances cause a relatively low accuracy of identification in case of using standard sample preparation protocols. In its turn, it caused creation of numerous advanced protocols, for example, ultrasound exposure to cells and special centrifugation methods [14].

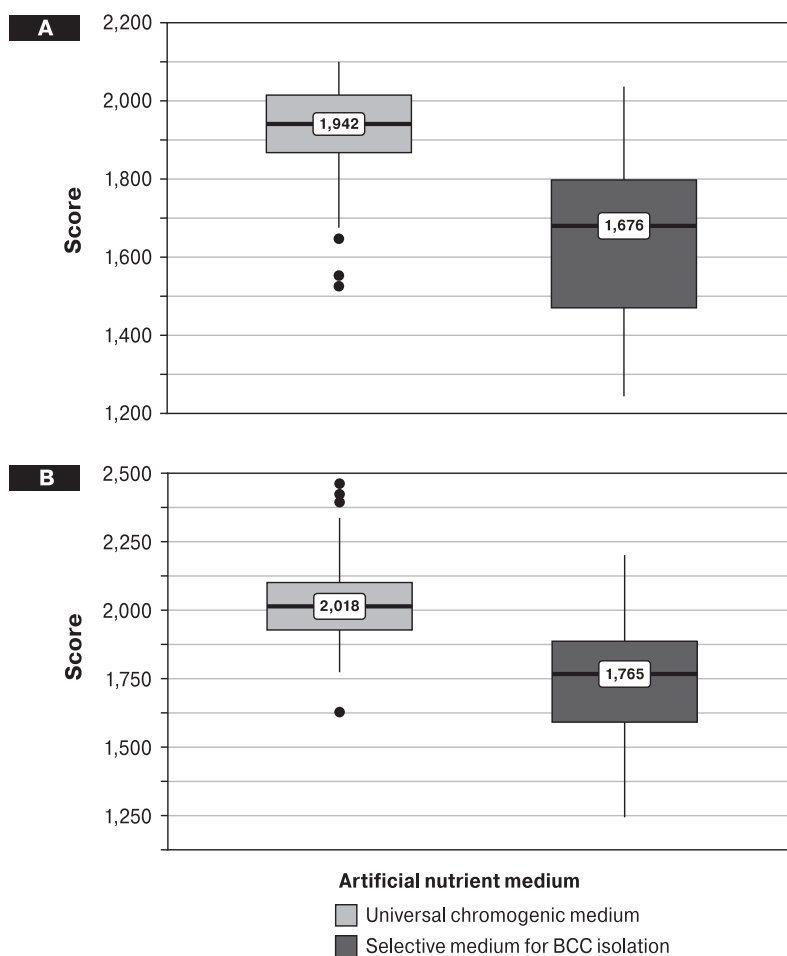


Figure. The analysis of the correlation between Score values and used nutrient media using the main library (A) and Mycobacteria Library version 4.0 (B); differences are statistically significant ($p < 0.05$)

However, these approaches require additional equipment and time, which negatively affects the optimization of laboratory work. This is due to an increased number of errors when performing additional stages in the protocol. Consequently, it is relevant to find accurate, fast and convenient methods for identifying such an important and complex group of microorganisms.

Undoubtedly, the accuracy of determining the microorganism species depends, among other things, on the nutrient medium composition on which it was cultivated. Such correlation was demonstrated in one of our previous works [9].

In our study, we analyzed the Score values obtained during the MABSc strains identification, after their isolation on the universal chromogenic medium and the medium for BCC isolation. During the study, significant differences were obtained between the analyzed media: the chromogenic medium turned out to be the most effective in terms of Score values.

However, due to its versatility and the possibility of non-pathogenic flora growth, its use in the microbiological diagnosis of material isolated from CF patients is very limited. For this reason, the use of selective media is quite relevant.

The Löwenstein–Jensen medium and the Middlebrook medium are mainly used as selective media for the NTM isolation. However, the use of these media is not the most optimal in terms of cost-effectiveness and accessibility. On the other hand, the use

of a medium for the BCC isolation seems rational, due to the fact that its use in microbiological monitoring of CF patients allows to isolate several groups of pathogens, typical for respiratory complications in CF. Moore J.E. and Millar B.C. (2020) in their study report the possibility of using various universal agar media with certain growth and inhibitory additives. Nevertheless, in our opinion, the use of a universal chromogenic medium is preferable, due to its prevalence in microbiological practice and the absence of special conditions for its preparation [10].

Conclusion

In the study it was revealed that the nutrient medium composition affects the accuracy of MABSc identification. It can be taken into account during development of protocols for optimizing and improving the identification accuracy for this group of bacteria in case of using MALDI-ToF mass spectrometry. However, in the context of such a complex pathology with high comorbidity as CF, considering the versatility of the chromogenic medium and the often polymicrobial nature of infections in CF, it is rational to use selective media for the primary specimens inoculation, including a medium for the BCC isolation. After that, it is necessary to transfer mycobacteria to a chromogenic medium to assess cultural properties and improve the species identification quality.

References

1. Поликарпова С.В., Жилина С.В., Кондратенко О.В., Лямин А.В., Борзова Ю.В. Руководство по микробиологической диагностике инфекций дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом. Москва–Тверь: Триада, 2019. 128 с. [Polikarpova S.V., Zhilina S.V., Kondratenko O.V., Lyamin A.V., Borzova Yu.V. Guidelines for the microbiological diagnosis of respiratory tract infections in patients with cystic fibrosis. Moscow–Tver: Triada, 2019. 128 p. (In Russ.)]
2. Ahmed I., Tiberi S., Farooqi J., Jabeen K., Yeboah-Manu D., Migliori G.B., Hasan R. Non-tuberculous mycobacterial infections—A neglected and emerging problem. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 92S, pp. S46–S50. doi: 10.1016/j.ijid.2020.02.022
3. Babalik A., Koç E.N., Sekerbey H.G., Dönmez G.E., Balıkcı A., Kilicaslan Z. Nontuberculous mycobacteria isolation from sputum specimens: A retrospective analysis of 1061 cases. *Int. J. Mycobacteriol.*, 2023, vol. 12, no. 1, pp. 55–65. doi: 10.4103/ijmy.ijmy_10_23
4. Belardinelli J.M., Li W., Avanzi C., Angala S.K., Lian E., Wiersma C.J., Palčėková Z., Martin K.H., Angala B., de Moura V.C.N., Kerns C., Jones V., Gonzalez-Juarrero M., Davidson R.M., Nick J.A., Borlee B.R., Jackson M. Unique features of Mycobacterium abscessus biofilms formed in synthetic cystic fibrosis medium. *Front. Microbiol.*, 2021, no. 12: 743126. doi: 10.3389/fmicb.2021.743126
5. Blanchard A.C., Waters V.J. Microbiology of cystic fibrosis airway disease. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2019, vol. 40, no. 6, pp. 727–736. doi: 10.1055/s-0039-1698464
6. Gardner A.I., McClenaghan E., Saint G., McNamara P.S., Brodlić M., Thomas M.F. Epidemiology of nontuberculous mycobacteria infection in children and young people with cystic fibrosis: analysis of UK cystic fibrosis registry. *Clin. Infect. Dis.*, 2019, vol. 68, no. 5, pp. 731–737. doi: 10.1093/cid/ciy531
7. Li J., Wang J., Sun H., Huo F., Shang Y., Li S. The effect of culture media dilution on recovery of rapidly growing mycobacteria. *New Microbiol.*, 2020, vol. 43, no. 4, pp. 191–194
8. Lyamin A.V., Ereshchenko A.A., Gusyakova O.A., Antipov V.A., Kozlov A.V., Ismatullin D.D. Application of chromogenic media for preliminary identification of acid-resistant bacteria. *Int. J. Mycobacteriol.*, 2023, vol. 12, no. 1, pp. 49–54. doi: 10.4103/ijmy.ijmy_6_23
9. Lyamin A.V., Ereshchenko A.A., Ismatullin D.D., Zolotov M.O., Alekseev D.V., Kayumov K.A. Evaluation of the influence of the cultivation medium on the result of identification of microorganisms from the group of acid-resistant bacteria of the order actinomycetales by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Int. J. Mycobacteriol.*, 2023, vol. 12, no. 2, pp. 157–161. doi: 10.4103/ijmy.ijmy_85_23
10. Moore J.E., Millar B.C. Comparison of four agar media for the enumeration of the Mycobacterium abscessus complex. *Int. J. Mycobacteriol.*, 2020, vol. 9, no. 3, pp. 289–292. doi: 10.4103/ijmy.ijmy_110_20
11. Nick J.A., Daley C.L., Lenhart-Pendergrass P.M., Davidson R.M. Nontuberculous mycobacteria in cystic fibrosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2021, vol. 27, no. 6, pp. 586–592. doi: 10.1097/MCP.0000000000000816

12. Parmar S., Tocheva E.I. The cell envelope of *Mycobacterium abscessus* and its role in pathogenesis. *PLoS Pathog.*, 2023, vol. 19, no. 5: e1011318. doi: 10.1371/journal.ppat.1011318
13. Ratnatunga C.N., Lutzky V.P., Kupz A., Doolan D.L., Reid D.W., Field M., Bell S.C., Thomson R.M., Miles J.J. The rise of non-tuberculosis mycobacterial lung disease. *Front. Immunol.*, 2020, no. 11: 303. doi: 10.3389/fimmu.2020.00303
14. Wang H.Y., Kuo C.H., Chung C.R., Lin W.Y., Wang Y.C., Lin T.W., Yu J.R., Lu J.J., Wu T.S. Rapid and accurate discrimination of *Mycobacterium abscessus* subspecies based on matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight spectrum and machine learning algorithms. *Biomedicines*, 2022, vol. 11, no. 1: 45. doi: 10.3390/biomedicines11010045
15. Wetzstein N., Diricks M., Kohl T.A., Wichelhaus T.A., Andres S., Paulowski L., Schwarz C., Lewin A., Kehrmann J., Kahl B.C., Dichtl K., Hügel C., Eickmeier O., Smaczny C., Schmidt A., Zimmermann S., Nährlich L., Hafkemeyer S., Niemann S., Maurer F.P., Hogardt M. Molecular epidemiology of *Mycobacterium abscessus* isolates recovered from German cystic fibrosis patients. *Microbiol. Spectr.*, 2022, vol. 10, no. 4: e0171422. doi: 10.1128/spectrum.01714-22

Авторы:

Алексеев Д.В., специалист лаборатории культуромных и протеомных исследований в микробиологии Научно-образовательного профессионального центра генетических и лабораторных технологий ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;

Каргина Е.А., студентка 6 курса Института педиатрии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;

Кокорев Д.А., специалист лаборатории метагеномики человека Научно-образовательного профессионального центра генетических и лабораторных технологий ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;

Ковалев А.М., к.б.н., зав. лабораторией генетических технологий в микробиологии Научно-образовательного профессионального центра генетических и лабораторных технологий ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;

Бородулина Е.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фтизиатрии и пульмонологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;

Лямин А.В., д.м.н., доцент, директор Научно-образовательного профессионального центра генетических и лабораторных технологий ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;

Исматуллин Д.Д., к.м.н., зав. лабораторией Научно-образовательного профессионального центра генетических и лабораторных технологий ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия.

Authors:

Alekseev D.V., Specialist of Laboratory of Cultural and Proteomic Research in Microbiology, Research and Educational Professional Center for Genetic and Laboratory Technologies, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;

Kargina E.A., 6th year student of Institute of Pediatrics, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;

Kokorev D.A., Specialist of Laboratory of Human Metagenomics of Professional Center for Education and Research in Genetic and Laboratory Technologies, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;

Kovalyov A.M., PhD (Biology), Head of Laboratory of Genetic Technologies in Microbiology of Professional Center for Education and Research in Genetic and Laboratory Technologies, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;

Borodulina E.A., DSc (Medicine), Head of Department of Phthysiology and Pulmonology, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;

Lyamin A.V., DSc (Medicine), Associate Professor, Director of Research and Educational Professional Center for Genetic and Laboratory Technologies, Samara State Medical University, Samara, Russian Federation;

Ismatullin D.D., PhD (Medicine), Head of Laboratory of Research and Educational Professional Center for Genetic and Laboratory Technologies, Samara State Medical University, Samara, 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, кДа и т.д.).

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, т.е. ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота — 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца — 82 мм, для 2 столбцов — 170 мм

Таблицы. Каждая таблица предоставляется отдельным файлом. Таблицы нумеруются арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их включения в текст статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка в отдельный файл. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарисовочные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tif (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Инфекция и иммунитет» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

При предоставлении статьи авторы должны руководствоваться требованиями, приведенными в нижеследующих пунктах. Статья может быть отклонена, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Инфекция и иммунитет» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации или книги. Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.
2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.
3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:
 - 1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках);
 - название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах);
 - почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках);
 - телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail;
 - фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности;
 - полное название статьи, направляемой в редакцию;
 - количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц;
 - раздела журнала, для которого предназначена данная работа: «Лекции», «Обзоры», «Оригинальные статьи», «Краткие сообщения», «В помощь практическому врачу»;
 - дата отправления работы.
 - 2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»).

- 3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:
 - название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);
 - подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа; в случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное учреждение; для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);
 - сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);
 - не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках;
 - адрес для переписки с указанием номера телефона, факса и адреса e-mail.
- 4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.
- 5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок_ Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).
- 6) Файл в формате .doc, .docx, .rtf со списком, в котором указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные.
- 7) Таблицы, если они есть — каждая отдельным файлом (название каждой таблицы должно быть приведены заголовком в файле с самой таблицей).
- 8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература») в виде таблицы из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	Ф.И.О., название публикации и источника на английском языке	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее DOI
Размещаются в таблице в алфавитном порядке, вначале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой	Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше	Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована — для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий, редакция просит предоставлять их перевод, обозначая его красным цветом шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк	В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в т.ч. системы 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:
 ООО «Урал-Пресс-Округ» и электронный каталог «Российская периодика»
 в сети Internet на сайте www.arpk.org.
 Подписной индекс 41392.
 Подписка на электронную версию журнала
 на сайте www.elibrary.ru**

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Алиев М.Р.	1045	Мелентьев Д.А.	1179	Borodulina E.A.	1227
Анисимова А.С.	1104	Митрофанова Е.С.	1070	Buts L.V.	1187
Антипова А.Ю.	1221	Михайловская В.С.	1117	Danilova E.M.	1187
Антоненков К.А.	1169	Михалко А.А.	1045	Davydenko V.S.	1153
Аронова Н.В.	1104	Мохонова Е.В.	1179	Drobyshevskaya V.G.	1187
Артюшкин С.А.	1209	Неумоина Н.В.	1087	Drozd I.V.	1187
Бабайкина О.Н.	1087	Новиков В.В.	1179	Egorova S.A.	1187
Базыкина Е.А.	1139	Новиков Д.В.	1179	Ermolaeva L.A.	1079
Балахонцева Л.А.	1139	Перфилова К.М.	1087	Ezhlova E.B.	1187
Безрукова Е.В.	1209	Погребная Т.Н.	1169	Ismatullin D.D.	1227
Блохинова М.А.	1169	Подладчикова О.Н.	1104	Istoriq O.A.	1187
Власова Л.Д.	1063	Рожкова М.В.	1131	Ivanov V.A.	1187
Водопьянов А.С.	1104	Романенкова Н.И.	1169	Kargina E.A.	1227
Воробейчиков Е.В.	1209	Рыкова В.А.	1104	Kokorev D.A.	1227
Воронина Е.В.	1087	Савлевич Е.Л.	1070	Koroleva I.V.	1079
Гудуева Е.Н.	1104	Светлова М.В.	1087	Kovalyov A.M.	1227
Евсеева В.А.	1169	Сергеев В.И.	1117, 1131	Kushnareva V.V.	1153
Железнова Н.В.	1221	Симбирцев А.С.	1209	Lyamin A.V.	1227
Заиченко И.Е.	1087	Синяков А.А.	1097	Melnikova A.A.	1187
Зурочка А.В.	1070	Смирнова О.В.	1097	Mikhailova E.S.	1079
Канаева О.И.	1169	Талаев В.Ю.	1087	Milichkina A.M.	1187
Конусова В.Г.	1209	Темякова С.Ю.	1104	Ostankova Yu.V.	1153
Котова В.О.	1139	Толстых Н.А.	1169	Popova A.Yu.	1187
Кудрявцева Л.Г.	1117	Троценко О.Е.	1139	Privalova K.A.	1079
Кузнецова М.В.	1117	Цыганова М.И.	1179	Ramsay E.S.	1187
Кузнецова Т.А.	1045	Шатый Н.О.	1209	Schemelev A.N.	1153
Лаврентьева И.Н.	1221	Шелканов М.Ю.	1045	Smirnov V.S.	1187
Лапин В.А.	1179	Alekseev D.V.	1227	Suvorov A.N.	1079
Любимова Е.В.	1070	Anufrieva E.V.	1153	Totalian A.A.	1153, 1187
Манакова Э.А.	1179	Bashketova N.S.	1187	Tumanova S.A.	1079
				Zhimbaeva O.B.	1187

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

активация	1087	моделирование механизмов		antibodies	1187	
ангиотензинпревращающий		патогенеза	1045	candidate genes	1153	
фермент (АСЕ)-2	1070	моноклональные антитела	1097	CCR2	1153	
антитела	1179	мультирезистентность	1117	CCR5	1153	
белки	1179	нозокомальные инфекции	1117	CD4	1153	
бета-D-глюкан	1209	онколитические вирусы	1063	CD4-лимфоциты	1131	
биологическая терапия	1070	онкологические заболевания	1063	chronic generalized periodontitis	1079	
биопечать 3D	1045	опухольевые клетки	1063	cohort study	1187	
вакцинация	1169	орган-на-чипе	1045	COVID-19	1070, 1131	
Вешенка обыкновенная	1209	органоиды	1045	CXCR4	1153	
виротерапия	1063	оториноларингология	1097	cysteine proteases	1079	
вирусная нагрузка	1131	парвовирусная инфекция	1221	cystic fibrosis infections	1227	
вирусные инфекции	1045	плазмиды	1104	ECHO30	1179	
вирусологические исследования		полиовирусы	1169	fimbriae	1079	
<i>ex vivo</i>	1045	полиомиелит	1169	<i>Helicobacter pylori</i>	1087	
вирусологический надзор	1169	полипозный риносинусит	1070	herd immunity	1187	
ВИЧ-инфекция	1139	полногеномное секвенирование	1104	heterogeneity	1079	
ВИЧ-инфекция, сочетанная		постковидный синдром	1070	human immunodeficiency virus	1153	
с хроническими вирусными		препараты на основе онколитических		<i>in silico</i>	1153	
гепатитами	1139	вирусов	1063	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1104, 1117	
ВИЧ-инфицированные	1131	проточная цитометрия	1097	Leningrad Region	1187	
ВИЧ-негативные	1131	ранжирование	1139	MABSc	1227	
гастрит	1087	распространенность	1221	MALDI-ToF mass spectrometry	1227	
гемоконтактные вирусные гепатиты		Северо-Запад России	1221	measles	1187	
гипервирулентность	1117	сидерофорная активность	1104	mumps	1187	
гипермукоидный фенотип	1104	системные глюкокортикостероиды		<i>Mycobacterium abscessus</i> complex	1227	
Глюкаферон	1209	сочетанные инфекции	1139	non-tuberculosis mycobacteria cultivation		1227
группы риска	1221	топические глюкокортикостероиды		NTM	1227	
гуморальное звено иммунитета	1097	тяжесть клинического течения	1131	<i>P. gingivalis</i>	1079	
заболеваемость	1131, 1139	фагочувствительность	1104	population	1187	
иммунитет	1169, 1179	факторы риска	1117	protein-protein interactions	1153	
иммунный ответ	1087	фенотипы риносинусита	1097	rubella	1187	
иммуноферментный анализ	1097, 1179	хемокиновые рецепторы	1087	SARS-CoV-2	1070	
интегральный метод	1139	хронический риносинусит	1070, 1097	seroprevalence	1187	
кардиохирургический стационар		цитокинный шторм	1209	St. Petersburg	1187	
клеточное звено иммунитета	1097	частота госпитализации	1070	T-клетки	1087	
клиническая диагностика	1221	энтеровирус	1179	vaccine-preventable infections	1187	
коронавирус	1209	эпидемиология	1139	virulent genotype	1079	
лабораторные маркеры	1221	3D клеточные культуры	1045	virus-host interaction	1153	

Иллюстрации к статье «Фенотипический и генетический анализ штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от больных внебольничной пневмонией в г. Ростове-на-Дону в 2021–2023 гг.» (авторы: В.А. Рыкова, О.Н. Подладчикова, А.С. Анисимова, Н.В. Аронова, А.С. Водопьянов, С.Ю. Темякова, Е.Н. Гудуева) (с. 1104–1116)

Illustrations for the article “Phenotypic and genetic analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from community-acquired pneumonia patients in Rostov-on-Don in 2021–2023” (authors: Rykova V.A., Podladchikova O.N., Anisimova A.S., Aronova N.V., Vodopyanov A.S., Temyakova S.Yu., Gudueva E.N.) (pp. 1104–1116)

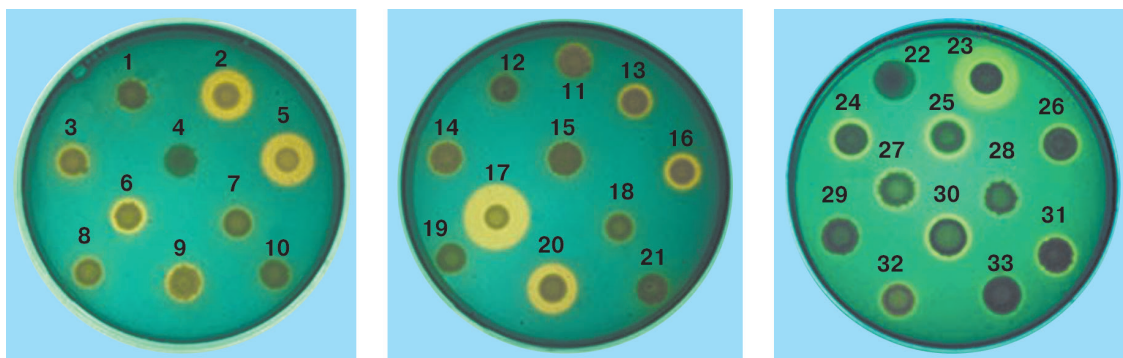
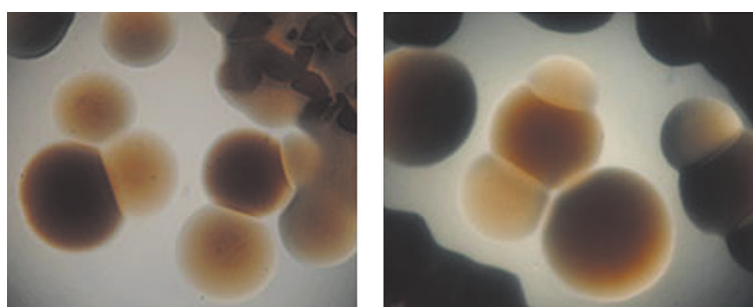


Рисунок 1. Сидерофорная активность 33-х исследованных штаммов *K. pneumoniae* на индикаторной среде для выявления сидерофоров (CAS-агаре)

Figure 1. Siderophore activity of 33 studied *K. pneumoniae* strains on an indicator medium for siderophore detection (CAS-agar)



И 9537

И 9941

Рисунок 3. Микрофотографии колоний двух штаммов *K. pneumoniae*: гипермукоидного И-9537 (№ 26) и классического И-9941 (№ 33). Увеличение ×28

Figure 3. Micrographs of colonies of two *K. pneumoniae* strains: hypermucooid I-9537 (No. 26) and classic I-9941 (No. 33). Magnification ×28

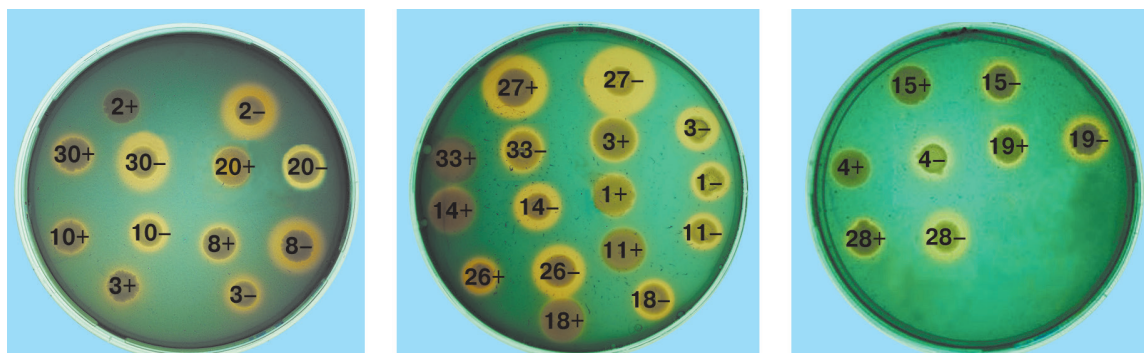


Рисунок 4. Сидерофорная активность клонов, различающихся по морфологии колоний (номер штамма соответствует номеру в таблицах 1–3)

Figure 4. Siderophore activity of clones differing in colony morphology (strain number corresponds to the number in Tables 1–3)

Подписной индекс:
Урал-Пресс – 41392

