

4

ИЮЛЬ—АВГУСТ

Том 101
2024

Ж
М
Э
И

ЖУРНАЛ
МИКРОБИОЛОГИИ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И
ИММУНОБИОЛОГИИ

ISSN 2686-7613 (Online)
ISSN 0372-9311 (Print)

JOURNAL

OF MICROBIOLOGY
EPIDEMIOLOGY
AND
IMMUNOBIOLOGY

4

JULY – AUGUST

VOLUME 101
2024

УЧРЕДИТЕЛИ:
ФБУН ЦНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА
ВСЕРОССИЙСКОЕ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ЭПИДЕМИОЛОГОВ,
МИКРОБИОЛОГОВ И ПАРАЗИТОЛОГОВ

ЖУРНАЛ МИКРОБИОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ИММУНОБИОЛОГИИ

(Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii)

Двухмесячный научно-практический журнал

Основан в 1924 г.

Рецензируемый «Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии» рассматривает актуальные проблемы мировой науки и обеспечивает синтез новейших результатов исследований в области микробиологии, вирусологии, эпидемиологии, вакцинологии, иммунобиологии, профилактики и контроля инфекционных заболеваний. Междисциплинарный подход дает возможность интеграции передовых научных знаний смежных специальностей, широкого видения проблем фундаментальной и прикладной инфектологии, а также комплексного подхода к созданию биомедицинских технологий. К публикации принимаются научные труды российских и зарубежных исследователей, лекции, а также методические материалы и законодательные документы в области сохранения эпидемиологического благополучия населения.

Журнал входит в базу данных SCOPUS и рекомендованный ВАК «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» по специальностям:

1.5.10. Вирусология (медицинские и биологические науки);

1.5.11. Микробиология (медицинские и биологические науки);

3.2.2. Эпидемиология (медицинские и биологические науки);

3.2.7. Аллергология и иммунология (медицинские и биологические науки).

В соответствии с рекомендациями ВАК (письмо ВАК от 06.12.2022 № 02-1198), журнал относится к категории K1 как издание, входящее в базы данных SCOPUS и RSCI.

4

ИЮЛЬ – АВГУСТ

**ТОМ 101
2024**

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых
коммуникаций.

Свидетельство ПИ № ФС77-75442

ISSN 0372-9311 (Print)
ISSN 2686-7613 (Online)

DOI prefix: 10.36233

Журнал открытого доступа,
не берущий плату за публикации.

Контент доступен под лицензией
Commons Attribution International
4.0 CC-BY.

Используется сервис CrossMark для
поддержания контента журнала
в актуальном состоянии и информирования
читателей об изменениях в опубликованных
статьях.

При публикации статьи на русском
и английском языках статья
размещается под одним DOI.
Переводы публикуются на сайте журнала.

**Журнал представлен
в международных базах данных
и информационно-справочных
системах:**

RSCI; RUSMED; SCOPUS; DOAJ; Ulrich's
Periodicals Directory, ROAD; EBSCO
Publishing (на платформе EBSCOhost);
ROAD; HYPERLINK; OPENALEX; FATCAT;
ZEITSCHRIFTEN DATENBANK; CrossRef;
Dimensions.

ПОДПИСКА:

ГК «Урал-пресс», индекс: 71436.
Тел.: +7(343) 262-65-43.
E-mail: info@ural-press.ru.

**Полные тексты статей журнала
доступны на сайтах:**

<https://microbiol.crie.ru>;
<https://www.elibrary.ru>;
<https://www.cyberleninka.ru>;
<https://www.rucont.ru>;
<https://www.ebsco.com>;
<https://www.doaj.org>;
<http://www.elsevier.com>

УЧРЕДИТЕЛИ:

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора
www.crie.ru

Всероссийское научно-практическое
общество эпидемиологов,
микробиологов и паразитологов
<http://npromp.ru>

ИЗДАТЕЛЬ:

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А.
Тел.: +7(495) 974-96-46.
E-mail: crie@pgr.ru

Начальник редакционно-

издательского отдела:
Осокина Ольга Владимировна

РЕДАКЦИЯ:

111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А.
Тел.: +7(925)011-87-79.
E-mail: jmei@crie.ru

Заведующая редакцией:

Устинкова Ольга Владимировна

Журнал размещает рекламу в соответствии
с ФЗ РФ от 13.03.2006 № 38-ФЗ
«О рекламе» и рекламной политикой.

К публикации принимаются только статьи,
подготовленные в соответствии с правилами
для авторов (<https://microbiol.crie.ru>).

Направляя статью в редакцию, авторы
принимают условия договора публичной
оферты (<https://microbiol.crie.ru>).

Подписано в печать 29.06.2024.
Формат 60×90^{1/8}. Тираж 158 экз.
Усл.-печ. л. 17,5.

Отпечатано в «Объединенный
полиграфический комплекс».
115114, Москва, Дербеневская
набережная, 7с2.
E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Зверев В.В., д.б.н., проф., академик РАН, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Заместители главного редактора

Семенов Т.А., д.м.н., проф., Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия
Макарова М.А., д.м.н., Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Ответственные секретари

Платонов А.Е., д.м.н., проф., Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Мионов К.О., д.м.н., Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Российские члены редакционной коллегии

Акимкин В.Г., д.м.н., проф., академик РАН, Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Брико Н.И., д.м.н., проф., академик РАН, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Брусина Е.Б., д.м.н., проф., член-корр. РАН, Кемеровский государственный медицинский университет, Кемерово, Россия

Бухарин О.В., д.м.н., проф., академик РАН, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург, Россия

Гинцбург А.Л., д.б.н., проф., академик РАН, Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

Горелов А.В., д.м.н., проф., академик РАН, Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Жирнов О.П., д.б.н., проф., член-корр. РАН, Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

Караулов А.В., д.м.н., проф., академик РАН, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Козлов Р.С., д.м.н., проф., член-корр. РАН, Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск, Россия

Куличенко А.Н., д.м.н., проф., академик РАН, Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия

Кутырев В.В., д.м.н., проф., академик РАН, Российский исследовательский институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия

Кюрегян К.К., д.б.н., проф., Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Иностранные члены редакционной коллегии

Alexander V. Bocharov, MD, PhD (Medicine), Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, USA

Shubhada Vopengamage, PhD, MSc, Professor, Institute of Microbiology, Slovak Medical University, Bratislava, Slovak Republic

Michael O. Favorov, PhD, D.Sci. (Medicine), DiaPrep System Inc., Atlanta, GA, United States; Chief Scientific Officer, TurkLab, Turkey

Elena A. Govorkova, MD, PhD, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA

Helmut Hahn, MD, PhD, Professor, European Academy of Natural Sciences, R. Koch Medical Society (Germany), German-Russian Koch-Mechnikov Forum, Berlin, Germany

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Дьяков И.Н., к.б.н., Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Мескина Е.Р., д.м.н., Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

Лобзин Ю.В., д.м.н., проф., академик РАН, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия

Лукашев А.Н., д.м.н., проф., член-корр. РАН, Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Малеев В.В., д.м.н., проф., академик РАН, советник директора, Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Михайлов М.И., д.м.н., проф., член-корр. РАН, Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва; Белгородский государственный университет, Белгород, Россия

Несвижский Ю.В., д.м.н., проф., Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Онищенко Г.Г., д.м.н., проф., академик РАН, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Свитич О.А., д.м.н., член-корр. РАН, Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Тартаковский И.С., д.б.н., проф., Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

Тотолян А.А., д.м.н., проф., академик РАН, Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Черкасов С.В., д.м.н., проф., член-корр. РАН, Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения РАН, Оренбург, Россия

Werner Lubitz, MSc, PhD, Professor, Biotech Innovation Research Development & Consulting, Vienna, Austria

Bogdan N. Petrunov, MD, DSc, Professor, Academic of the Bulgarian Academy of Sciences, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, President of the Medical Section of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

Georgy S. Nikolov, MD, PhD, Associate Professor, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria

Murad Giyas oglu Mammadov, MD, DSc, Professor, National Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan

Никонова А.А., к.б.н., Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

16+

© ФБУН ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора, 2024

FOUNDERS:
Central Research Institute for Epidemiology
Russian Scientific Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists

JOURNAL
of MICROBIOLOGY,
EPIDEMIOLOGY
AND
IMMUNOBIOLOGY
(Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii)

Bimonthly scientific and practical journal

Founded in 1924

Peer-reviewed Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology is dedicated to the most significant issues of world science and provides a synthesis of the cutting edge research in the field of microbiology, virology, epidemiology, vaccinology, immunobiology, prevention of infectious diseases.

The interdisciplinary approach enables the reader to integrate advanced scientific knowledge of related specialties, to receive a broad vision of the problems of fundamental and applied infectology and a comprehensive approach to creating innovative biomedical technologies.

The Journal welcomes Russian and foreign original research articles, reviews, brief reports, mini-reviews, opinions and other special featured articles as well as lectures, methodological materials related to its profile.

The Journal is indexed in the SCOPUS database and 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:

1.5.10. Virology (medical and biological sciences);

1.5.11. Microbiology (medical and biological sciences);

3.2.2. Epidemiology (medical and biological sciences);

3.2.7. Clinical immunology, Allergology (medical and sciences).

In accordance with the recommendations of the Higher Attestation Commission (letter of the Higher Attestation Commission dated December 06, 2022 No. 02-1198), the Journal belongs to the K1 category, as a publication included in the SCOPUS and RSCI databases.

4

JULY–AUGUST

VOLUME 101

2024

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Certificate of registration PI no. FS77-75442

ISSN 0372-9311 (Print)
ISSN 2686-7613 (Online)

DOI prefix: 10.36233

The journal is an Platinum Open Access peer-reviewed scholarly journal, which does not charge author fees.

The content is licensed under Common Attribution International 4.0 CC-BY.

The CrossMark service is used.

Some articles are translated into English under the decision of the Editorial Board. When publishing an article in Russian and English, the translated article is placed under the same DOI on the Journal's website.

The Journal is indexed by the following abstracting and indexing services:

RSCI; RUSMED; SCOPUS; DOAJ; Ulrich's Periodicals Directory, ROAD; EBSCO Publishing (на платформе EBSCOhost); ROAD; HYPERLINK; OPENALEX; FATCAT; ZEITSCHRIFTEN DATENBANK; CrossRef; Dimensions.

Index for subscription to the printed version of the journal:

Ural Press: 71436.
Tel.: +7(343) 262-65-43.
E-mail: info@ural-press.ru.

Full texts of issues of the journal are available:

<https://microbiol.crie.ru>;
<https://www.elibrary.ru>;
<https://www.cyberleninka.ru>;
<https://www.rucont.ru>;
<https://www.ebsco.com>;
<https://www.doaj.org>;
<http://www.elsevier.com>

FOUNDERS:

Central Research Institute for Epidemiology
www.crie.ru

Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists
<http://npoemp.ru>

PUBLISHER:

Central Research Institute for Epidemiology, 111123, 3A, Novogireevskaya St., Moscow, Russian Federation.
Phone/fax: +7(495) 974-96-46.
E-mail: crie@pccr.ru

EDITORIAL OFFICE:

5A, Maly Kazenny per.,
Moscow, 105064, Russia.
Tel.: +7(925)011-87-79.
E-mail: jmei@crie.ru

Head of the Editorial and publishing department:

Olga V. Osokina

Head of Editorial Office:

Olga V. Ustinkova

The Editorial Board is not responsible for the advertising content.

The materials that do not meet the requirements of the journal (<https://microbiol.crie.ru>) are rejected without further consideration.

When the author submits an article to the Editorial Board, he/she accepts the terms and conditions of the public offer agreement (<https://microbiol.crie.ru>).

Signed to the press on June 29, 2024.

Print format 60×90^{1/8}.

Circulation 158 copies.

Printed at the Ob'yedinenny poligraficheskiy kompleks Ltd.115114, 7C2, Derbenevskaya emb., Moscow, Russian Federation.

E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

EDITOR-IN-CHIEF

Vitaly V. Zverev, D. Sci. (Biology), RAS Full Member, Professor, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Deputy Editors

Tatiana A. Semenenko, Professor, D. Sci. (Medicine), N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Maria A. Makarova, D. Sci. (Medicine), Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

Executive Secretaries

Alexander E. Platonov, Professor, D. Sci. (Medicine), Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Konstantin O. Mironov, D. Sci. (Medicine), Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

EDITORIAL BOARD

Russian members of the Editorial Board

Vasily G. Akimkin, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Nikolay I. Briko, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Elena B. Brusina, RAS Corr. Member, professor, D. Sci. (Medicine), Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia

Oleg V. Bukharin, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Ural Branch of the Academy of Sciences, Orenburg, Russia

Aleksandr L. Gintsburg, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Biology), N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Alexandr V. Gorelov, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Oleg P. Zhirnov, RAS Corr. Member, Professor, D. Sci. (Biology), N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Alexander V. Karaulov, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Alexander N. Kulichenko, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia

Roman S. Kozlov, RAS Corr. Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

Vladimir V. Kutryev, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia

Karen K. Kyuregyan, D. Sci. (Biology), Professor, Head, Laboratory of molecular epidemiology of viral hepatitis Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Foreign members of the Editorial Board

Alexander V. Bocharov, MD, PhD (Medicine), Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, USA

Shubhada Boppegamage, PhD, MSc, Professor, Institute of Microbiology, Slovak Medical University, Bratislava, Slovak Republic

Michael O. Favorov, PhD, D. Sci. (Medicine), DiaPrep System Inc., Atlanta, GA, United States; Chief Scientific Officer, Turklab, Turkey

Elena A. Govorkova, MD, PhD, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA

Helmut Hahn, MD, PhD, Professor, European Academy of Natural Sciences, R. Koch Medical Society (Germany), German-Russian Koch-Mechnikov Forum, Berlin, Germany

EDITORIAL COUNCIL

Ilya N. Dyakov, Cand. Sci. (Biology), Head, Laboratory of biosynthesis of immunoglobulins, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Elena R. Meskina, D. Sci. (Medicine), Head, Department of Pediatric Infections, Department of Therapy, M.F. Vladimirovsky

Yuri V. Lobzin, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia

Alexander N. Lukashev, RAS Corr. Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Martinsovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-Borne Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Victor V. Maleev, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Mikhail I. Mikhaylov, RAS Corr. Member, Professor, D. Sci. (Medicine), I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Belgorod State University, Belgorod, Russia

Gennadiy G. Onishchenko, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Yury V. Nesvizhsky, Professor, D. Sci. (Med.), I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Oxana A. Svitich, RAS Corr. Member, Professor, D. Sci. (Medicine), I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Igor S. Tartakovsky, Professor, D. Sci. (Biology), N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Areg A. Totolian, RAS Full Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

Sergey V. Cherkasov, RAS Corr. Member, Professor, D. Sci. (Medicine), Orenburg Federal Research Center, Ural Branch of RAS, Orenburg, Russia

Werner Lubitz, MSc, PhD, Professor, Biotech Innovation Research Development & Consulting, Vienna, Austria

Bogdan N. Petrunov, MD, D. Sci. (Medicine), Professor, Academician of the Bulgarian Academy of Sciences, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, President of the Medical Section of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

Georgy S. Nikolov, MD, PhD, Associate Professor, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria

Murad Giyas oglu Mammadov, MD, D. Sci. (Medicine), Professor, National Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan

Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia

Alexandra A. Nikonova, Cand. Sci. (Biology), Head, Laboratory of molecular biotechnology, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Котов И.А., Аглетдинов М.Р., Роев Г.В., Пимкина Е.В., Надтока М.И., Пересадына А.В., Бухарина А.Ю., Светличный Д.В., Гончаров С.Е., Выходцева А.В., Борисова Н.И., Лысенков В.Г., Чанышев М.Д., Агабалаев Д.Н., Саенко В.В., Черкашина А.С., Семенов Т.А., Дубоделов Д.В., Хафизов К.Ф., Акимкин В.Г. Геномный надзор за SARS-CoV-2 в Российской Федерации: возможности платформы VGARus*	435
Куличенко А.Н., Рязанова А.Г., Логвин Ф.В., Еременко Е.И., Аксенова Л.Ю., Писаренко С.В., Семёнова О.В., Герасименко Д.К., Ковалев Д.А., Головинская Т.М., Бобрышева О.В., Печковский Г.А., Олейникова К.А., Никитина А.В. Сибирская язва в Российской Федерации в 2023 году, или «старая сказка о главном»*	448
Хуснутдинова Т.А., Будилова О.В., Крысанова А.А., Шалепов К.В., Синякова А.А., Савичева А.М., Коган И.Ю. Молекулярно-генетическая характеристика уропатогенных <i>Escherichia coli</i> , выделенных при бессимптомной бактериурии у беременных*	462
Грачева А.В., Дроков А.О., Смирнова Д.И., Хохлова Д.М., Корчевая Е.Р., Панкратов А.А., Трунова Г.В., Хохлова В.А., Воронцова М.С., Ленева И.А., Светич О.А., Зверев В.В., Файзулов Е.Б. Вирулентность и тканевая специфичность разных эпидемически значимых вариантов SARS-CoV-2 для золотистых сирийских хомячков*	470
Исаева Г.Ш., Цветкова И.А., Никитина Е.В., Зарипова А.З., Баязитова Л.Т., Исаева Р.А., Полев Д.Е., Саитова А.Т., Краева Л.А., Гончаров Н.Е., Калиногорская О.С., Гордеева С.А., Сидоренко С.В. Молекулярно-генетическая характеристика <i>Streptococcus pneumoniae</i> серогрупп 15 и 11, циркулирующих в России, и их связь с глобальными генетическими линиями*	483
Михайловская В.С., Селиванова П.А., Кузнецова М.В. Распространённость генов <i>qacED1</i> , <i>qacE</i> , <i>oqxA</i> , <i>oqxB</i> , <i>acrA</i> , <i>sepA</i> и <i>zitB</i> среди мультирезистентных <i>Klebsiella pneumoniae</i> , выделенных в кардиохирургическом стационаре	502
Шулятникова О.А., Яковлев М.В., Годовалов А.П. Оценка вклада симбиотических отношений микроорганизмов ротовой полости в развитие воспалительных изменений слизистой оболочки рта при полном отсутствии зубов*	512
Плеханов Н.А., Федоров А.В., Челдышова Н.Б., Кураташвили А.Ю., Заднова С.П. Сравнительный анализ структуры регуляторных генов штаммов <i>Vibrio cholerae</i> O1 биовара El Tor	520
ОБЗОРЫ	
Маслова И.И., Манолов А.И., Глущенко О.Е., Козлов И.Е., Цуркис В.И., Попов Н.С., Самойлов А.Е., Лукашев А.Н., Ильина Е.Н. Ограничения в создании искусственных популяций в агентном моделировании эпидемий: систематический обзор*	530
Тигеева Е.В., Низоленко Л.Ф., Карпенко Л.И. Роль Т-клеточного иммунитета важно учитывать при создании современных вакцин против клещевого энцефалита*	546
Буйлова И.А., Савкина М.В., Саяпина Л.В., Кривых М.А., Обухов Ю.И. Оценка современного состояния фармацевтической разработки противовстафилококковых иммунопрофилактических и иммунотерапевтических лекарственных препаратов и совершенствование методологических подходов к их экспертизе	560

* Статья опубликована на русском и английском языках на сайте журнала: <https://www.microbiol.crie.ru>.

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCHES

Kotov I.A., Agletdinov M.R., Roev G.V., Pimkina E.V., Nadtoka M.I., Peresadina A.V., Bukharina A.Yu., Svetlichny D.V., Goncharov S.E., Vykhodtseva A.V., Borisova N.I., Lysenkov V.G., Chanyshhev M.D., Agabalaev D.N., Saenko V.V., Cherkashina A.S., Semenenko T.A., Dubodelov D.V., Khafizov K.F., Akimkin V.G. Genomic surveillance of SARS-CoV-2 in Russia: insights from the VGARus platform*	435
Kulichenko A.N., Ryazanova A.G., Logvin F.V., Eremenko E.I., Aksenova L.Yu., Pisarenko S.V., Semenova O.V., Gerasimenko D.K., Kovalev D.A., Golovinskaya T.M., Bobrysheva O.V., Pechkovskii G.A., Oleynikova K.A., Nikitina A.V. Anthrax in the Russian Federation in 2023 or in other words, «the same old story»*	448
Khusnutdinova T.A., Budilovskaya O.V., Krysanova A.A., Shalepo K.V., Sinyakova A., Savicheva A.M., Kogan I.Yu. The molecular-genetic characteristics of uropathogenic <i>Escherichia coli</i> isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria*	462
Gracheva A.V., Drovok A.O., Smirnova D.I., Khokhlova D.M., Korchevaya E.R., Pankratov A.A., Trunova G.V., Khokhlova V.A., Vorontsova M.S., Leneva I.A., Svitich O.A., Zverev V.V., Faizuloev E.B. Virulence and tissue tropism of different epidemiologically significant SARS-CoV-2 variants for golden Syrian hamsters*	470
Isaeva G.Sh., Tsvetkova I.A., Nikitina E.V., Zaripova A.Z., Bayazitova L.T., Isaeva R.A., Polev D.E., Saitova A.T., Kraeva L.A., Goncharov N.E., Kalinogorskaya O.S., Gordeeva S.A., Sidorenko S.V. Molecular genetic characteristics of <i>Streptococcus pneumoniae</i> serogroups 15 and 11 representatives circulating in Russia and their relationship with global genetic lineages*	483
Mikhailovskaya V.S., Selivanova P.A., Kuznetsova M.V. Prevalence of <i>qacEΔ1</i> , <i>qacE</i> , <i>oqxA</i> , <i>oqxB</i> , <i>acrA</i> , <i>cepA</i> and <i>zitB</i> genes among multidrug-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolated in a cardiac hospital	502
Shulyatnikova O.A., Yakovlev M.V., Godovalov A.P. Evaluation of symbiotic relationships of oral microorganisms and their effect on the development of inflammatory changes of the oral mucosa in the complete absence of teeth*	512
Plekhanov N.A., Fedorov A.V., Cheldyshova N.B., Kuratashvili A.Yu., Zadnova S.P. Comparative analysis of the structure of regulatory genes of <i>Vibrio cholerae</i> serotype O1 biotype El Tor strains.....	520
REVIEWS	
Maslova I.I., Manolov A.I., Glushchenko O.E., Kozlov I.E., Tsurkis V.I., Popov N.S., Samoilov A.E., Lukashov A.N., Iliina E.N. Limitations in creating artificial populations in agent-based epidemic modeling: a systematic review*	530
Tigeeva E.V., Nizolenko L.F., Karpenko L.I. The importance of the role of T-cell immunity in the development of modern tick-borne encephalitis vaccines*	546
Builova I.A., Savkina M.V., Sayapina L.V., Krivykh M.A., Obukhov Yu.I. Assessment of the current state of pharmaceutical development of antistaphylococcal immunoprophylactic and immunotherapeutic drugs and improvement of methodological approaches to their expertise	560

* The article is published in Russian and English on the journal's website: <https://www.microbiol.crie.ru>.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-554>



Геномный надзор за SARS-CoV-2 в Российской Федерации: возможности платформы VGARus

Котов И.А.^{1,2}, Аглетдинов М.Р.^{1,2}, Роев Г.В.^{1,2}, Пимкина Е.В.¹, Надтока М.И.¹, Пересадына А.В.¹, Бухарина А.Ю.¹, Светличный Д.В.¹, Гончаров С.Е.¹, Выходцева А.В.¹, Борисова Н.И.¹, Лысенков В.Г.¹, Чанышев М.Д.¹, Агабалаев Д.Н.¹, Саенко В.В.¹, Черкашина А.С.¹, Семенов Т.А.³, Дубоделов Д.В.¹, Хафизов К.Ф.^{1✉}, Акимкин В.Г.¹

¹Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия;

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия;

³Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

Аннотация

Введение. В ответ на пандемию COVID-19 в России были приняты комплексные меры реагирования. Одной из них стала разработка платформы агрегации вирусных геномов (VGARus) для мониторинга изменчивости вируса.

Цель работы — описать роль VGARus в отслеживании генетических изменений SARS-CoV-2.

Материалы и методы. Выравнивание вирусных геномов, последующую трансляцию в аминокислоты и поиск мутаций производили с помощью программы NextClade. С целью анализа геномной изменчивости подсчитывали число аминокислотных изменений относительно референсной последовательности.

Результаты. Анализ данных VGARus позволил идентифицировать новые варианты вируса, что способствовало улучшению диагностических тестов и может помочь в разработке вакцин. Платформа предоставила возможность прогнозировать эпидемиологические тенденции и оперативно реагировать на изменения эпидемиологической ситуации. Например, с использованием VGARus был точно предсказан рост заболеваемости COVID-19 летом 2022 г. и в начале 2023 г., связанный с появлением субвариантов Omicron BA.5 и XBB. Данные платформы помогают проверять эффективность праймеров и ДНК-зондов, что обеспечивает высокую точность диагностики и снижает риск ложноотрицательных результатов.

Заключение. VGARus демонстрирует растущую роль геномного эпиднадзора в борьбе с COVID-19 и повышение готовности к будущим вспышкам инфекционных заболеваний. Платформа является мощным инструментом для формирования научно обоснованных решений по борьбе с пандемией и смягчению её последствий для здоровья населения, экономики и общества. Она предоставляет возможность оперативно получать информацию об эпидемиологической обстановке в конкретном регионе России, использовать геномные данные для проведения филогенетического анализа, сравнивать мутационный спектр последовательностей SARS-CoV-2 с зарубежными образцами. Данные VGARus позволяют проводить ретроспективный анализ и выдвигать гипотезы прогностического характера. Так, явно можно увидеть динамику смены различных вариантов вируса: последовательности, принадлежащие линиям Alpha, Beta, Delta, Omicron и многим менее распространённым, отчётливо формируют подъёмы заболеваемости, которые отражаются на эпидемиологической ситуации. В данный момент платформа расширяется для мониторинга изменчивости других патогенов, что увеличивает её значимость для общественного здравоохранения.

Ключевые слова: геномная эпидемиология, молекулярная эпидемиология, SARS-CoV-2, секвенирование следующего поколения, платформа VGARus, геномный надзор

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ЦНИИ Эпидемиологии (протокол № 111 от 22.12.2020).

Благодарность. Мы выражаем искреннюю благодарность всем, кто принимал участие в создании, обслуживании и наполнении геномными данными базы VGARus.

Источник финансирования. Работы по секвенированию и анализу данных в ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора проводились при финансовой поддержке федерального проекта «Санитарный щит», субсидий, выделенных по распоряжению Правительства РФ, а также за счёт внутренних финансовых ресурсов ЦНИИ Эпидемиологии.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Котов И.А., Аглетдинов М.Р., Роев Г.В., Пимкина Е.В., Надтока М.И., Пересадына А.В., Бухарина А.Ю., Светличный Д.В., Гончаров С.Е., Выходцева А.В., Борисова Н.И., Лысенков В.Г., Чанышев М.Д., Агабалаев Д.Н., Саенко В.В., Черкашина А.С., Семенов Т.А., Дубоделов Д.В., Хафизов К.Ф., Акимкин В.Г. Геномный надзор за SARS-CoV-2 в Российской Федерации: возможности платформы VGARus. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):435–447.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-554>

EDN: <https://www.elibrary.ru/irjxcx>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-554>

Genomic surveillance of SARS-CoV-2 in Russia: insights from the VGARus platform

Ivan A. Kotov^{1,2}, Matvey R. Agletdinov^{1,2}, German V. Roev^{1,2}, Ekaterina V. Pimkina¹, Maksim I. Nadtoka¹, Arina V. Peresadina¹, Anna Yu. Bukharina¹, Dmitry V. Svetlichny¹, Sergey E. Goncharov¹, Anastasiia V. Vykhodtseva¹, Nadezhda I. Borisova¹, Vladislav G. Lysenkov¹, Mikhail D. Chanyshv¹, David N. Agabalaev¹, Valeriia V. Saenko¹, Anna S. Cherkashina¹, Tatiana A. Semenenko³, Dmitry V. Dubodolov¹, Kamil F. Khafizov^{1✉}, Vasily G. Akimkin¹

¹Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia;

²Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Russia;

³National Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after the Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. In response to the COVID-19 pandemic in the Russian Federation, comprehensive response measures were taken. One of these measures was the development of a viral genome aggregation platform (VGARus) to monitor virus variability.

The **aim** of this paper is to describe the role of the VGARus platform in tracking genetic variation in SARS-CoV-2.

Materials and methods. VGARus utilizes sequencing data and bioinformatics tools to monitor genetic variations in SARS-CoV-2. The viral genomes were aligned using NextClade, which also translated them into amino acids and identified mutations. The viral variability over time was analyzed by counting the number of amino acid changes compared to the reference sequence.

Results. The analysis of data within VGARus enabled the identification of new virus variants, contributing to improved diagnostic tests and vaccine development. The platform allowed for the prediction of epidemiologic trends, facilitating a rapid response to changes in the epidemiologic situation. For example, using VGARus, an increase in COVID-19 incidence was accurately predicted in the summer of 2022 and early 2023, which were associated with the emergence of Omicron subvariants BA.5 and XBB. Data from the platform helps validate the effectiveness of primers and DNA probes to ensure high diagnostic accuracy and reduce the risk of false negatives.

Conclusion. VGARus demonstrates the growing role of genomic surveillance in combating COVID-19 and improving preparedness for future infectious disease outbreaks. The platform is a powerful tool for generating evidence-based solutions to combat a pandemic and mitigate its health, economic and societal impacts. It provides the ability to promptly obtain information on the epidemiologic situation in a particular region of the Russian Federation, use genomic data for phylogenetic analysis, compare the mutational spectrum of SARS-CoV-2 sequences with foreign samples. VGARus data allow for both retrospective analysis and predictive hypotheses. For example, we can clearly see the dynamics of the change of different virus variants: sequences belonging to the Alpha, Beta, Delta, Omicron lineages and many less common ones, clearly form the upsurges of morbidity, the interaction of which is reflected in the epidemiological picture. It is also currently being expanded to monitor other pathogens, increasing its public health relevance.

Keywords: *genomic epidemiology, molecular epidemiology, SARS-CoV-2, next generation sequencing, VGARus platform, genomic surveillance*

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Central Research Institute for Epidemiology (protocol No. 111, December 22, 2020).

Acknowledgement. We express our sincere gratitude to everyone who took part in the creation, maintenance and filling of the VGARus platform with genomic data.

Funding source. The sequencing and data analysis efforts at the Institute were supported by funding from the "Sanitary Shield" federal project, subsidies provided under an order from the Russian Federation Government, and the Institute's internal financial resources.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Kotov I.A., Agletdinov M.R., Roev G.V., Pimkina E.V., Nadtoka M.I., Peresadina A.V., Bukharina A.Yu., Svetlichny D.V., Goncharov S.E., Vykhodtseva A.V., Borisova N.I., Lysenkov V.G., Chanyshv M.D., Agabalaev D.N., Saenko V.V., Cherkashina A.S., Semenenko T.A., Dubodelov D.V., Khafizov K.F., Akimkin V.G. Genomic surveillance of SARS-CoV-2 in Russia: insights from the VGARus platform. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2024;101(4):435–447.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-554>

EDN: <https://www.elibrary.ru/irjxcx>

Введение

Благодаря развитию технологий высокопроизводительного секвенирования, известных как секвенирование нового поколения (next-generation sequencing, NGS), стоимость экспериментов, связанных с определением геномных последовательностей, за последние 15 лет значительно снизилась. NGS всё чаще используется в различных областях биологии и медицины, в том числе в вирусологии, где применение подобных методик для изучения вирусных геномов стало обычной практикой [6–8]. Кроме того, современные средства биоинформатики открыли широкие возможности для создания и анализа баз данных геномов патогенов, вызывающих различные инфекционные заболевания [6–8]. Геномная эпидемиология стала важным средством в борьбе с эпидемиями. Она позволяет изучать генетические изменения, происходящие в геномах патогенов, идентифицировать и классифицировать различные линии, проводить оценку их патогенного потенциала и трансмиссивности [9–15]. Такие исследования очень важны для разработки новых диагностических наборов, современных эффективных вакцин, определения наилучших стратегий противодействия эпидемиям и прогнозирования заболеваемости.

Ярким примером применения молекулярно-генетического мониторинга является детальное изучение новой коронавирусной инфекции во время пандемии COVID-19 [16]. При анализе геномов SARS-CoV-2 были установлены ассоциации между различными вариантами вируса и характеристиками течения эпидемии. Такой подход позволяет точно отслеживать ситуацию, понимать взаимосвязь между генетическими вариантами и их способностью вызывать заболевание, а также внедрять целенаправленные меры для предотвращения распространения инфекции.

В начале пандемии COVID-19 профессор Эдвард Холмс из Университета Сиднея, представляющий команду под руководством Юн-Чжэн Чжана из Фуданьского университета в Шанхае, опубликовал нуклеотидную последовательность вирусного генома. Эта информация была разме-

щена на платформе Virological.org¹, что позволило международному научному сообществу начать незамедлительно принимать меры по противодействию распространению патогена, среди которых были разработка новых диагностических тестов и последующее создание вакцин [17, 18]. По мере развития пандемии страны, которые обычно в меньшей степени полагались на собственные геномные данные, начали проводить обширные эксперименты по секвенированию. Полученные знания использовались для разработки стратегических планов, направленных на сдерживание распространения инфекции [19]. Широкое использование секвенирования геномов SARS-CoV-2 привело к значительному увеличению числа новых последовательностей, загруженных в международные базы данных. Самой известной базой стала GISAID (<https://www.gisaid.org>) с более чем 16 млн последовательностей из более чем 200 стран [8].

Цель исследования — описать роль платформы VGARus и её данных для анализа геномных последовательностей вируса SARS-CoV-2, полученных в России.

Материалы и методы

Перед началом данного исследования было получено информированное согласие пациентов, протокол был одобрен этическим комитетом Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Роспотребнадзора (ЦНИИЭ); протокол № 111 от 22.12.2020. Биологический материал был получен путём взятия мазков из носоглотки у пациентов с симптомами COVID-19. Образцы были собраны из различных регионов России, причём большая их часть поступила из Москвы и Московской области. Наличие РНК SARS-CoV-2 подтверждалось с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией в реальном времени. Для выделения РНК использовали набор «RIBO-prer» («АмплиСенс»), для обратной транскрипции — набор реагентов «REVERTA-L» («АмплиСенс»).

¹ Novel 2019 Coronavirus Genome.

URL: <https://virological.org/t/novel-2019-coronavirus-genome/319>

Секвенирование выполняли на платформах «Illumina MiSeq» («Illumina») с использованием набора реагентов «MiSeq v2» (PE 150 + 150 или PE 250 + 250 циклов) или «MiSeq v3» (PE 300 + 300 циклов), а также «Illumina NextSeq 2000» с использованием набора реагентов «NextSeq 1000/2000 P2 v3» (300 циклов), «MinION» с использованием набора «Midnight Kit» («Oxford Nanopore Technologies»), «DNBSEQ-G50» с использованием набора «ATOPlex RNA Library Prep Set» («MGI Tech»). Метод Сэнгера использовался для секвенирования фрагментов гена спайкового белка, но эта информация практически не была задействована в анализе. Кроме того, использовались данные нуклеотидных последовательностей из базы данных GISAID в случае их географической принадлежности к России. Программу «Pangolin» [19], а также внутренние инструменты и скрипты применяли для классификации различных вариантов SARS-CoV-2.

Всего использовали более 82 000 полных геномов SARS-CoV-2 с датой забора биоматериала с 01.01.2020 по 31.12.2023. Отбирали только те геномные последовательности, которые соответствовали заданным критериям качества. Отобранные геномы выравнивали на референсную последовательность NC_045512.2 с помощью средства NextClade и затем транслировали в аминокислотные последовательности. С помощью специализированного скрипта, написанного на языке Python, подсчитывали количество аминокислотных изменений по сравнению с референсом.

Результаты

Разработка и создание платформы агрегации вирусных геномов России VGARus

В 2021 г. на базе ЦНИИЭ в соответствии с постановлением Правительства РФ была разработана и создана платформа VGARus (Virus Genome Aggregator of Russia; дата регистрации 06.07.2023, № 2023622263). Ключевыми задачами этой платформы являются сбор данных о вирусных геномах, централизованный анализ генетического разнообразия и временной динамики выявленных вариантов SARS-CoV-2 в России. Фактически был создан научный консорциум, включающий учреждения Роспотребнадзора, Министерства здравоохранения Российской Федерации, различные научные институты и другие организации.

В настоящее время членами консорциума являются более 150 организаций, многие из которых активно проводят обширное геномное секвенирование SARS-CoV-2 и загружают полученные последовательности в базу данных VGARus для дальнейшего анализа. Кроме того, в проекте участвуют Республика Армения и Республика Беларусь, что позволяет отслеживать изменчивость патогенов в

соседних странах с активными транспортными связями.

Процесс мониторинга изменчивости вирусных геномов включает следующие шаги (рис. 1):

- секвенирующая лаборатория получает биологический материал из диагностических лабораторий, включая те, что находятся при стационарах. Качество этих образцов предварительно оценивается, обычно с помощью ПЦР-анализа, для определения вирусной нагрузки и пригодности образца к секвенированию (NGS);
- лаборатория, предоставившая биологический материал, должна внести соответствующие метаданные в платформу VGARus (информация о поле, возрасте, статусе вакцинации пациента, дате забора биологического материала, регионе сбора и т.д.);
- специализированная лаборатория выполняет необходимую подготовку образцов и последующее секвенирование вирусных геномов;
- проводится первичный биоинформатический анализ, который включает контроль качества данных, сборку генома (обычно путём выравнивания на референсный геном) и проверку валидности последовательностей (оценка степени покрытости генома);

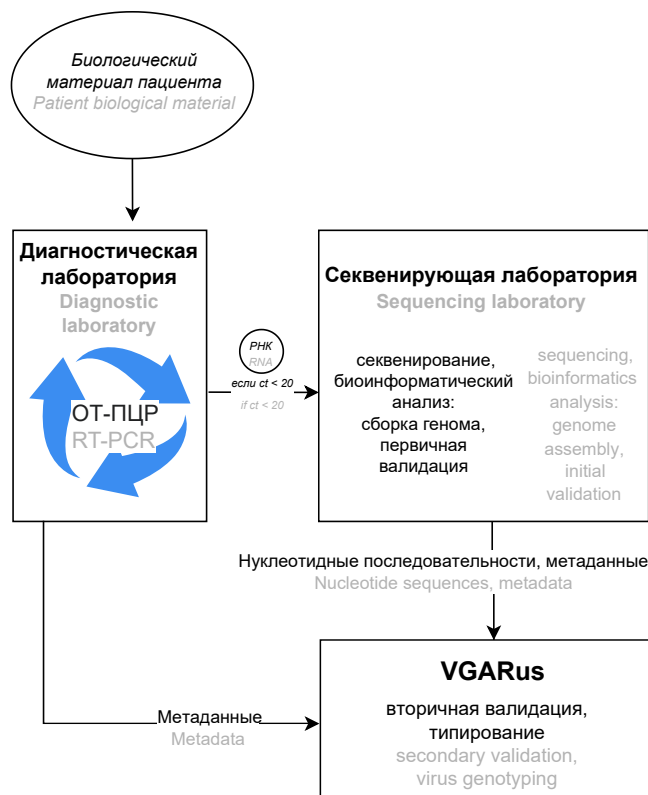


Рис. 1. Этапы процесса мониторинга изменчивости вирусных геномов.

Fig. 1. The stages of the process of monitoring the variability of viral genomes.

- загруженная геномная информация проходит валидацию и обрабатывается с использованием программ «Pangolin» [19, 20] для полных геномов и «V-TRACE» (разработка ЦНИИЭ) для результатов фрагментного секвенирования в автоматическом режиме. Образцы, для которых собраны геномы не проходят проверку качества, помечаются на платформе как невалидные. После этого в диагностическую лабораторию отправляется соответствующее уведомление.

Все геномные последовательности SARS-CoV-2 в стране, полученные в рамках рутинного эпидемиологического мониторинга, регистрируются в базе данных VGARus. Система поддерживает как ручной способ загрузки, так и загрузку с помощью специализированных API, что позволяет добавлять большое количество последовательностей. Каждый образец в системе содержит не только нуклеотидную последовательность, но и технические данные. При регистрации в базе данных образцу автоматически присваивается внутренний идентификатор, после чего последовательность генома SARS-CoV-2 добавляется в поле информации об образце. Помимо описанных ранее, техническая информация также включает в себя данные об организациях, участвующих в сборе образцов и лабораторной обработке, даты получения образца, регистрации материала в системе и загрузки последовательности.

S-белок SARS-CoV-2 играет ключевую роль в идентификации варианта вируса. Это связано с его ролью в проникновении вириона в клетки хозяина и высокой частотой мутаций/вариабельностью последовательности [21]. Однако попытка установить вариант вируса исключительно на основе мутаций в гене S-белка может привести к неполным или противоречивым результатам [22]. Учитывая сложность вирусной эволюции, при которой отдельные мутации могут по-разному влиять на функции вируса, а их комбинация может приводить к изменению общего эффекта, биоинформатики ЦНИИЭ разработали алгоритм V-TRACE для решения этой проблемы. Алгоритм идентифицирует мутации в гене S-белка SARS-CoV-2, после чего происходит оценка меры правдоподобия принадлежности исследуемой последовательности к различным линиям вируса.

Временная динамика и эволюционные траектории вариантов SARS-CoV-2

Платформа VGARus представляет собой ценный ресурс для отслеживания динамики развития пандемии COVID-19 в России и исследования её особенностей. В частности, систематически собираемая информация о последовательностях позволяет исследовать геномное разнообразие вируса.

В 2020 г. наблюдалось богатое разнообразие различных линий SARS-CoV-2 [23]. Они не демонстрировали значительных преимуществ по сравнению друг с другом, из-за чего ни один из вариантов не становился доминирующим. В декабре 2020 г., примерно через год после начала распространения нового коронавируса по всему миру, власти Великобритании сообщили Всемирной организации здравоохранения об обнаружении новой линии SARS-CoV-2, названной VOC-202012/01. Она имела многочисленные мутации в своём геноме и изначально была названа «британской», однако позже была переименована в Alpha, чтобы избежать наименования вариантов по странам. Среди мутаций, обнаруженных в гене S-белка, наиболее важными оказались N501Y, P681H и Δ69–70 [24, 25]. Эти мутации влияли на способность вируса инфицировать клетки и уходить от иммунного ответа хозяина и, как следствие, позволяли ему более эффективно распространяться. Этот вариант был обнаружен в России в конце 2020 г. и сохранялся в начале 2021 г., что совпало с резким увеличением числа случаев заболевания.

Вскоре после этого был идентифицирован вариант Beta, но он имел намного меньшее распространение, чем Alpha. Летом 2021 г. появился вариант Delta, быстро ставший доминирующим, что совпало со значительным ростом заболеваемости и уровня госпитализаций [26]. После периода относительно благоприятной эпидемиологической обстановки в декабре 2021 г. появился вариант Omicron (рис. 2), что привело к заметному увеличению числа случаев заболевания в России. Однако заболеваемость так же быстро снизилась.

Несмотря на малое количество выявляемых случаев COVID-19 весной 2022 г., появление субвариантов Omicron BA.4 и BA.5 привело к росту заболеваемости, который продолжался до конца октября (рис. 3). В конце 2022 г. и начале 2023 г. появились высококонтагиозные варианты, такие как BQ.1*. Подобные смены доминирующих линий хорошо иллюстрируют постоянно меняющийся и сложный характер эволюции SARS-CoV-2. Примечательно, что в начале 2023 г. в популяцию вируса вернулись модифицированные версии ранее существовавших линий, в частности, Omicron BA.2, представленный в виде рекомбинантных форм ХВВ*. В ноябре 2023 г. в нескольких странах, в том числе в России, начал быстро распространяться вариант коронавируса BA.2.86, неофициально названный Pirola. Он был примечателен большим числом накопленных в геноме изменений по сравнению с более ранними линиями и к концу 2023 г. стал преобладающей линией вируса, а в начале 2024 г. его сублиния JN.1 почти полностью доминировала в большинстве стран мира.

Описанная выше изменчивость патогена подчёркивает важность постоянного эпидемиологиче-

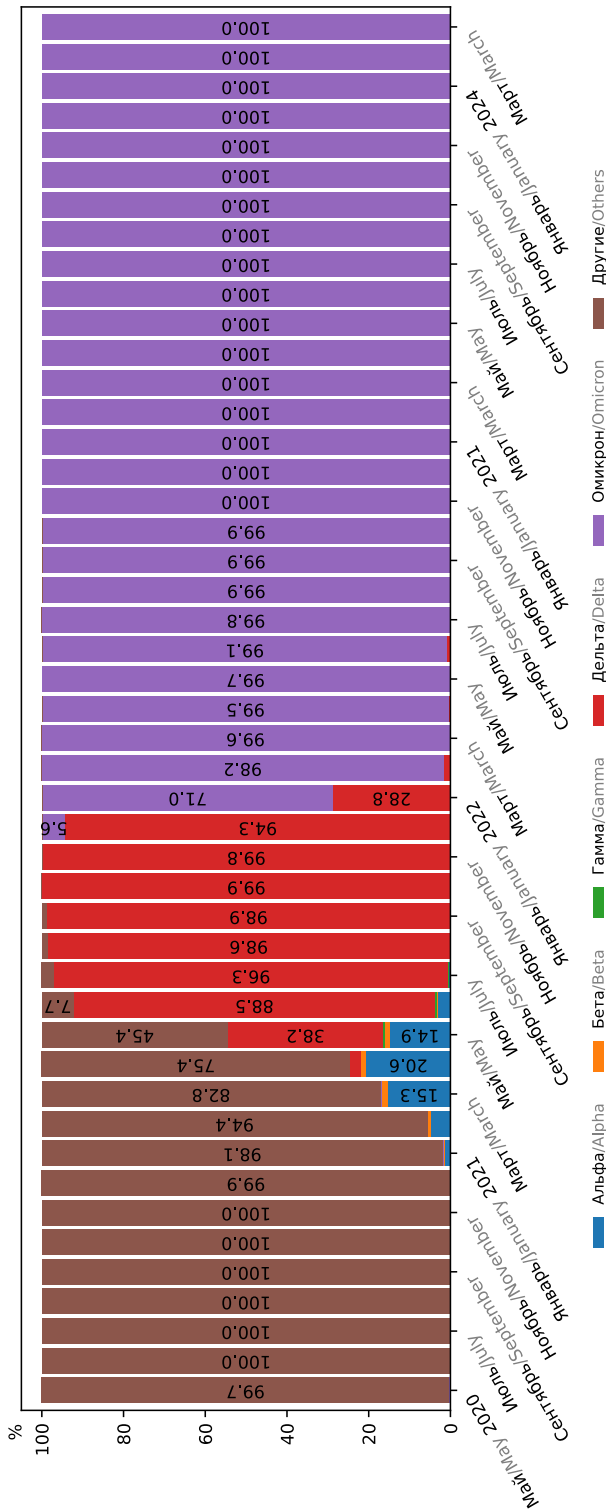


Рис. 2. Диаграмма частот встречаемости значимых вариантов SARS-CoV-2 в России с мая 2020 г. по март 2024 г.

Fig. 2. A diagram illustrating the occurrence of significant SARS-CoV-2 variants in the Russian Federation throughout 2020 until the March of 2024.

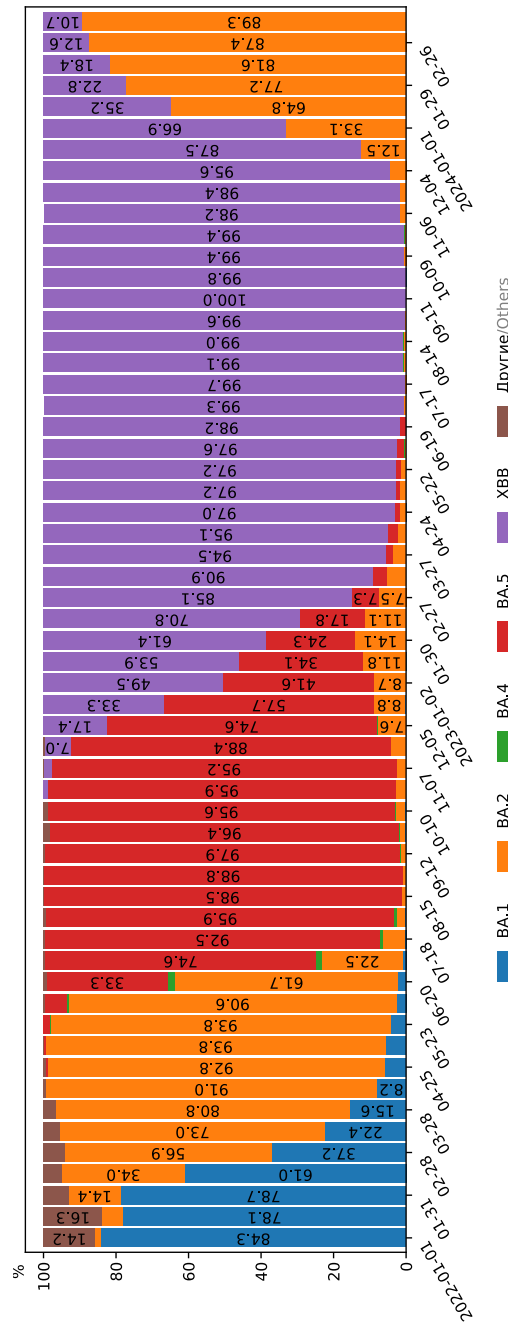


Рис. 3. Диаграмма частот встречаемости различных сублиний варианта Omicron с января 2022 г. по март 2024 г.

Рост распространённости сублинии BA.2 к концу 2023 г. объясняется появлением варианта BA.2.86.

Fig. 3. Chart showing the frequency of occurrence of various Omicron sublineages from early 2022 to March of 2024.

The rise in the prevalence of the BA.2 sublineage by the end of 2023 is attributed to the BA.2.86 variant.

ского мониторинга и секвенирования геномов вируса для своевременного выявления новых вариантов или изменений в структуре вирусной популяции. Оперативная идентификация таких изменений способна помочь при разработке стратегий общественного здравоохранения и при контроле распространения этих вариантов.

Сравнительный анализ рис. 2 и 3 показал, что существует тенденция, при которой каждая новая значимая линия вируса при занятии доминирующего положения достигала порогового значения 50% общего размера популяции приблизительно за 1,5–3,0 мес. Одновременно с этим период доминирования отдельной линии составлял от 3 мес до 1 года.

Затем мы попытались объяснить динамику заболеваемости COVID-19 в России и изучить возможность прогнозирования скорости распространения конкретной сублинии вируса на основе данных о последовательностях SARS-CoV-2. Наша основная гипотеза заключается в том, что специфические мутации в геноме вируса существенно влияют на уровень заболеваемости. Однако зарегистрированный уровень заболеваемости, несомненно, зависит и от других критических факторов, таких как уровень иммунизации населения, объёмы проведения ПЦР-тестирований и сезонные факторы, точный вклад которых трудно оценить. Поэтому эти факторы не были использованы для анализа.

Период с мая 2020 г. по декабрь 2023 г. был разделён на интервалы по 21 день. Исследуемый временной промежуток был ограничен декабрём 2023 г., что позволяет детально изучить тенденции, сложившиеся на тот момент. Однако последующее

появление варианта BA.2.86 показало, что прогноз будущих трендов может быть чрезвычайно сложным. С учетом ключевой роли, которую играют миссенс-мутации в скорости передачи вируса, были проведены выравнивание нуклеотидных последовательностей на референсный геном и их трансляция в аминокислотные последовательности с помощью NextClade [27]. В качестве метрики вирусной изменчивости было выбрано количество аминокислотных изменений по сравнению с референсной последовательностью. Например, быстрый рост числа часто встречающихся изменений может указывать на активный мутационный процесс или на завоз новой линии в исследуемый регион. Чем выше скорость мутаций вируса, тем больше вероятность того, что некоторое подмножество приобретённых мутаций сможет повлиять на свойства вируса, например, на его трансмиссивность.

Аминокислотные изменения по сравнению с референсной последовательностью с мая 2020 г. по декабрь 2023 г. представлены черной линией на рис. 4. Для каждого интервала отображены только мутации с частотой не менее 50%. Такой подход позволяет оценивать мутации, которые либо существенно влияют на адаптивность вирусного варианта, либо могут наследоваться вместе с такими мутациями. На графике явно выделяются три различных интервала времени, в которые происходило увеличение числа частых мутаций в геноме SARS-CoV-2. Эти моменты соответствуют июню 2021 г., февралю 2022 г. и январю 2023 г. соответственно. Каждый из этих интервалов совпадает с широким распространением в России вариантов Delta, Omicron и XBB соответственно.

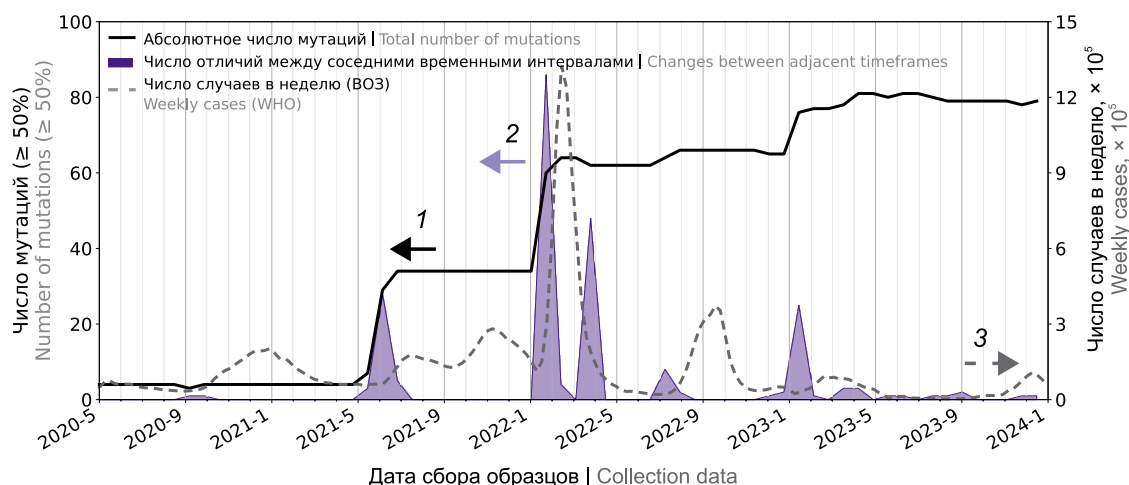


Рис. 4. Аминокислотные изменения по сравнению с референсной последовательностью с мая 2020 г. по декабрь 2023 г.

- 1 — число аминокислотных замен относительно референсного варианта (NC_045512.2) с частотой 50% и выше;
- 2 — число изменений множества мутаций с частотой не менее 50% по сравнению с предыдущим периодом;
- 3 — временная динамика случаев заболевания в России согласно данным ВОЗ.

Fig. 4. Changes in amino acid sequences compared to the reference sequence from May 2020 to December 2023.

- 1 — number of amino acid substitutions relative to the reference variant (NC_045512.2) with a frequency of 50% or higher;
- 2 — number of changes in the set of mutations with a frequency of at least 50% compared to the previous period;
- 3 — temporal dynamics of COVID-19 cases in Russia according to WHO data.

Одним из потенциальных ограничений описанного выше метода является то, что он не может эффективно отразить динамику изменений, когда новые и старые доминирующие линии имеют разные характерные мутации, но их абсолютное количество различается незначительно. Простой подсчёт мутаций в таком случае приведёт к ошибочному выводу о том, что генетической эволюции не происходит. Чтобы решить эту проблему, был проведён анализ качественного состава мутаций.

Наборы аминокислотных изменений с частотой более 50% были рассмотрены как отдельные математические множества для каждого временного интервала. Различия между ними для смежных временных интервалов были оценены и использованы для измерения генетической изменчивости вируса. В этом случае как появление, так и исчезновение мутации с частотой не менее 50% по сравнению с предыдущим периодом считалось изменением (рис. 4, 2). Эта вспомогательная стратегия продемонстрировала свою надёжность. Благодаря её применению мы наблюдали качественные изменения в наборе частых мутаций популяции, вызванных переходом от линии BA.1 к линии BA.2. При этом колебания в абсолютном числе распространённых мутаций оказались минимальными. Обе описанные выше совокупности данных согласуются с данными Всемирной организации здравоохранения о заболеваемости SARS-CoV-2 в России (рис. 4, 3).

Увеличению заболеваемости часто предшествуют значительные изменения в геноме патогена, как это было летом 2021 г. — появление варианта Delta, в декабре 2021 г. — Omicron (BA.1/BA.2),

в июле 2022 г. — Omicron (BA.5), в начале 2023 г. — XBB (рис. 5). Однако сезонные факторы также играют важную роль.

Нами исследована динамика частот мутаций в геноме SARS-CoV-2 в России (рис. 5). Было отмечено, что при распространении новой доминантной линии в указанные выше моменты времени частота характерных для них мутаций демонстрировала быстрый S-образный рост. Когда новая линия начинала доминировать в стране, частота мутаций, характерных для заменяемой линии, снижалась по аналогичной S-образной траектории. Помимо общей картины, на графике распределения частот мутаций можно наблюдать локальные тренды.

Распределение частот мутаций также позволяет увидеть два ярко выраженных тренда в правой части графика. Более точный анализ мутаций и последовательностей, составляющих эти тренды, показывает, что обе группы линий включают XBB.1.9.1, FL.24, FL.1.5.1, XBB.1.16, XBB.1.16.11 и XBB.1.16.17. Верхний тренд, расположенный в области высоких частот (70–90%) и обозначенный пунктирной линией, формируется мутациями, общими для всех этих линий, такими как S:G252V и ORF1b:S959P. В то же время в области низких частот пунктирной линией обозначен нижний тренд, сформированный мутациями, обнаруженными в подгруппах тех же линий, например, S:E180V, представленная только в XBB.1.16, XBB.1.16.11 и XBB.1.16.17, и ORF1a:G1819S, обнаруженная в остальных линиях.

Изучение динамики распространения этих линий со временем может потенциально помочь прогнозировать эволюцию SARS-CoV-2. По этой

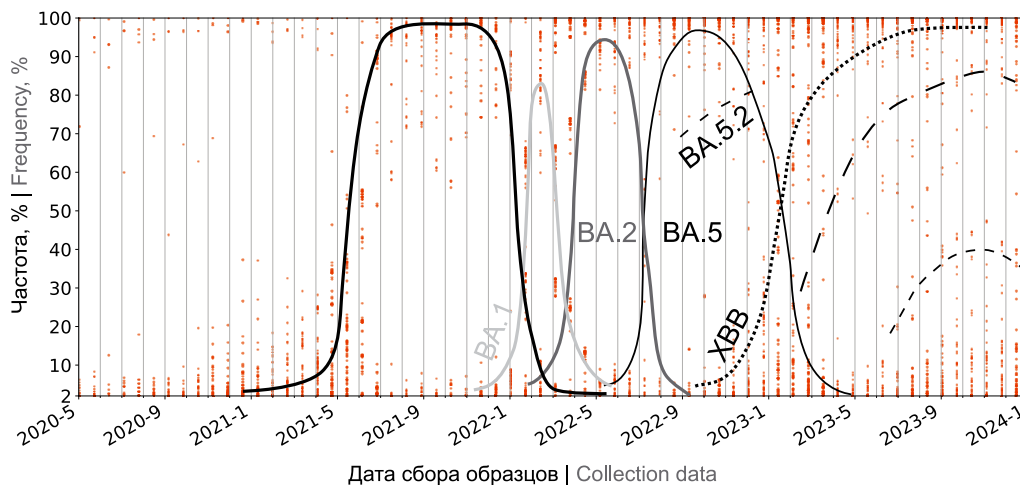


Рис. 5. Динамика частотного распределения аминокислотных мутаций.

Линии показывают тенденции, связанные с изменениями доминирующей линии вируса. Каждая точка соответствует мутации, представленной на временной шкале, её положение указывает на частоту встречаемости на момент сбора образцов. Показаны основные линии, приводившие к изменениям частот мутаций. Пунктирными линиями выделены локальные тренды.

Fig. 5. Dynamics of the frequency distribution of amino acid mutations.

The lines indicate trends associated with changes in the dominant virus lineage. Each point represents a mutation plotted on the timeline, with its position indicating the frequency of occurrence at the time of sample collection. The major lineages leading to changes in mutation frequencies are shown. Local trends are highlighted with dashed lines.

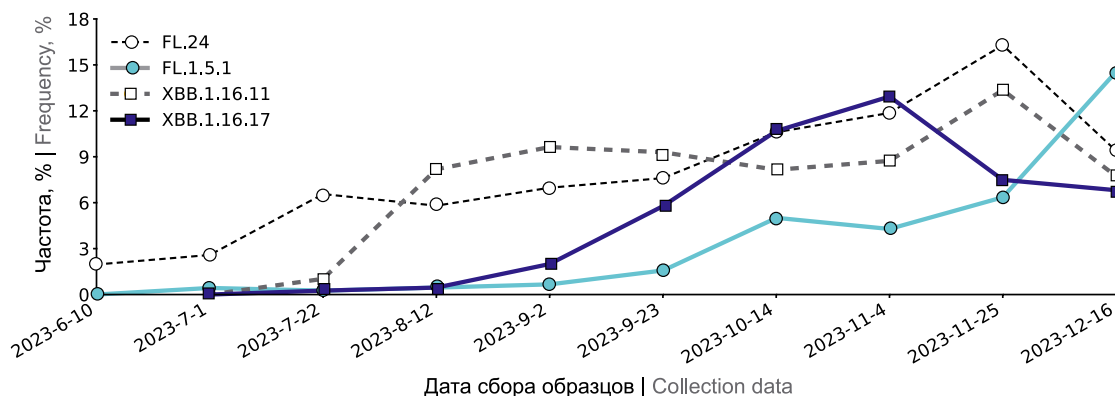


Рис. 6. Распространённость SARS-CoV-2 с июня по середину декабря 2023 г.
Fig. 6. Prevalence of SARS-CoV-2 from June 2023 through mid-December 2023.

причине динамика частоты для нескольких обсуждаемых сублиний с июня по декабрь 2023 г. представлена на **рис. 6**. Линии XBB.1.9.1 и XBB.1.16 были намеренно исключены из этого анализа в силу убывающего или статичного характера тренда их частот в рассматриваемый период. Первая линия значительно снизила свою распространённость почти до нуля, в то время как вторая не изменила существенно свою частоту, оставаясь в пределах 6–16%. Следовательно, они не рассматриваются как будущие потенциально доминирующие линии.

Однако после этого периода линия BA.2.86* (Pirola) стала доминирующей вскоре после XBB, что не могло быть предсказано по данным, полученным к середине декабря 2023 г., когда эта линия была найдена лишь в нескольких образцах. Рисунок 6 также показывает, что большинство линий, ранее считавшихся потенциально доминирующими, хотя и становятся более распространёнными, достигают частоты лишь около 16% за несколько месяцев. Между тем, согласно более ранним наблюдениям в этом исследовании, доминирующая линия обычно достигает 50% частоты в течение 1,5–3,0 мес с момента появления.

Эти данные позволяют предположить, что будущая потенциально доминирующая линия должна иметь определённую минимальную скорость распространения; в противном случае она, вероятно, будет вытеснена другими. Такая гипотеза согласуется с периодической природой смены линий. Кроме того, такие события значительно усложняют прогнозирование хода пандемии, особенно в части определения доминирующей линии в ближайшем будущем и её влияния на здоровье населения. Наконец, быстрое появление и распространение совершенно нового варианта может сделать все предыдущие прогнозы неактуальными.

Также были получены данные о распределении мутаций в геноме. На **рис. 7** обозначены мутации, достигшие частоты не менее 50% в рассматриваемые моменты времени. Многие из них обнаружены в гене S-белка, что согласуется с результатами других исследовательских групп [28]. Можно отметить, что каждая новая доминирующая линия привносит всё меньше новых мутаций в этот ген. Однозначно интерпретировать это наблюдение в настоящее время затруднительно, однако это может указывать на степень родства между линиями или на то, что структура

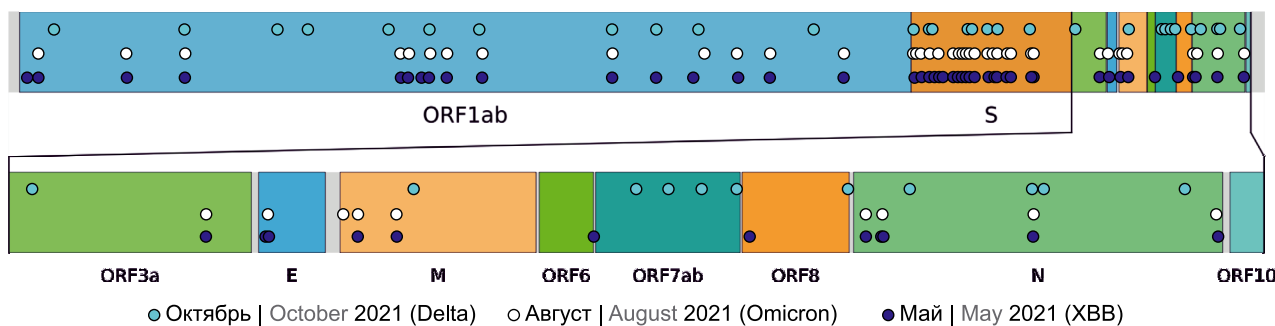


Рис. 7. Распределение мутаций, присутствующих не менее чем у 50% образцов в геноме SARS-CoV-2 в октябре 2021 г., августе 2022 г. и мае 2023 г.

Для каждого временного периода указана доминирующая линия.

Fig. 7. Distribution of mutations across the SARS-CoV-2 genome presented in at least 50% of the samples for October 2021, August 2022, and May 2023.

For each timeframe dominant strain is presented.

гена приближается к оптимальной, максимизирующей аффинность к рецептору ACE2 человека.

Обсуждение

Разработка российской платформы агрегирования вирусных геномов VGARus стала важным аспектом в борьбе с пандемией COVID-19 в стране. Эта база данных содержит более 320 000 последовательностей геномов SARS-CoV-2, из них около 200 000 полных геномов. Она помогает выполнять множество важных функций, таких как идентификация новых вариантов вируса, создание эффективных диагностических инструментов и формирование политики в области общественного здравоохранения [12–15]. VGARus значительно способствовала пониманию пространственной и временной динамики пандемии COVID-19. Предоставляя подробную информацию о времени и месте взятия каждого геномного образца, платформа позволяет визуализировать распределение конкретных вирусных вариантов в России и их эволюцию во времени. Это детальное знание даёт важное преимущество в предсказании эпидемиологических тенденций в ближайшие месяцы. Например, с использованием VGARus мы точно предсказали рост заболеваемости COVID-19 летом 2022 г. и в начале 2023 г., связанный с появлением субвариантов Omicron BA.5 и XBB соответственно. Эти прогностические возможности позволяют органам здравоохранения оперативно реагировать на эпидемиологическую ситуацию.

В целом представленные выше результаты о частотах встречаемости различных вариантов SARS-CoV-2 на территории России согласуются с данными других исследований в разных странах. Например, В. Xiao и соавт. использовали данные платформы GISAID [29]. Ими были рассмотрены последовательности, полученные в период с января 2020 г. по 20 мая 2023 г. в США, Великобритании, Индии, ЮАР, Бразилии и России. За этот период платформой GISAID было собрано около 79 000 геномов из России.

Общая картина эволюции и распространения вируса в разных странах схожа, однако имеются существенные региональные отличия. Например, в США и Великобритании пиковая доля варианта Alpha составляла около 65% и 100% соответственно. При этом в России оценка его пиковой распространённости составила около 40% по данным зарубежного исследования и 20% в текущей работе. Это различие может объясняться более широкой географией нашего исследования, нежели проведённого только по данным GISAID.

Вариант Delta попал в Россию примерно в тот же период, что и в другие рассмотренные страны, — в апреле–мае 2021 г. Исключение составила Индия, где этот вариант появился в марте 2021 г.,

а также Бразилия, где распространение штамма началось лишь в июле 2021 г. Как и в большинстве других изученных стран, в России практически не обнаруживался вариант Gamma, который при этом был доминирующим в Бразилии и регистрировался в США с пиковой частотой около 10%.

Частотная динамика сублиний BA.1 и BA.2 практически совпадает у России и всех исследованных стран, за исключением Индии, где BA.1 не стал доминирующим (менее 40%), а BA.2 распространился раньше и оставался доминирующим почти 8 мес. Уникальной для России и Индии ситуацией оказалось практически полное отсутствие варианта BA.4, который в остальных странах встречался с пиковой частотой 20–60%.

Представленное сравнение демонстрирует, что отдельные варианты вируса могут начинать своё распространение в разных регионах планеты с разницей в несколько месяцев, а время их максимальной распространённости может заметно варьировать. При этом данные о частотной динамике вариантов SARS-CoV-2 согласуются с выводами о сроках их распространения и доминирования, сделанными в данном исследовании.

В этом исследовании нами также были продемонстрированы основные возможности платформы VGARus, представлена динамика разнообразия вариантов и мутаций SARS-CoV-2 в России, а также подробно рассмотрен сценарий, предшествовавший смене доминирующей линии в декабре 2023 г. Результаты этой части исследования выявили определённые ограничения в предсказании доминирующей линии в ближайшем будущем. Эти ограничения, вызванные быстрым появлением новых линий, впоследствии становящихся доминирующими, представляют собой существенную проблему для имеющихся инструментов прогнозирования [30, 31]. Тем не менее мы не теряем надежды на то, что в будущем появятся подходы, которые будут эффективно учитывать и этот фактор. Несмотря на это, данная работа продемонстрировала некоторые общие тенденции в течении пандемии, среди которых важнейшее значение имеет периодический характер смены доминирующего варианта.

Помимо своей роли в отслеживании течения эпидемий, VGARus имеет практическое значение, такое как создание и тестирование диагностических тестов. Так, исследователи ЦНИИЭ регулярно используют данные VGARus для проверки эффективности праймеров и ДНК-зондов, используемых в тестовых наборах. Таким образом, платформа даёт информацию для разработки и переработки олигонуклеотидов для диагностических тест-систем, информацию о циркулирующих в нашей стране вариантах, о варибельности последовательности патогена в области «посадки» праймеров и зондов [32].

Возможности платформы VGARus теперь выходят за рамки исследований SARS-CoV-2. Платформа расширяется для предоставления данных о других патогенах, включая вирусы гепатита, гриппа, ветряной оспы, кори и многие другие. Такая возможность работы с несколькими патогенами станет ценным инструментом для вирусологов и специалистов по инфекционным заболеваниям, позволит им осуществлять более качественный мониторинг распространения различных болезней и своевременно принимать меры по защите общественного здравоохранения.

В целом VGARus является значительным достижением совместных усилий многочисленных научных институтов Роспотребнадзора и других ведомств [12]. Её внедрение расширило наше понимание SARS-CoV-2 и внесло вклад в изучение и борьбу с пандемией COVID-19. VGARus подчёркивает критическую важность эпидемиологического мониторинга в борьбе со вспышками инфекционных заболеваний и значимость совместных усилий в решении глобальных кризисов здравоохранения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Barzon L., Lavezzo E., Militello V., et al. Applications of next-generation sequencing technologies to diagnostic virology. *Int. J. Mol. Sci.* 2011;12(11):7861–84. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms12117861>
2. Quer J., Colomer-Castell S., Campos C., et al. Next-generation sequencing for confronting virus pandemics. *Viruses.* 2022;14(3):600. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14030600>
3. Capobianchi M.R., Giombini E., Rozera G. Next-generation sequencing technology in clinical virology. *Clin. Microbiol. Infect.* 2013;19(1):15–22. DOI: <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12056>
4. Singh D.D. Next-generation sequencing technologies as emergent tools and their challenges in viral diagnostic. *Biomed. Res.* 2018;29(8):1637–44. DOI: <https://doi.org/10.4066/biomedicalresearch.29-18-362>
5. Mokili J.L., Rohwer F., Dutilh B.E. Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Curr. Opin. Virol.* 2012;2(1):63–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.12.004>
6. Akermi S., Jayant S., Ghosh A., et al. Viroinformatics for Viral diseases: tools and databases. In: *Translational Bioinformatics in Healthcare and Medicine*. Elsevier;2021:171–82.
7. Olson R.D., Assaf R., Brettin T., et al. Introducing the Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC): a resource combining PATRIC, IRD and ViPR. *Nucleic. Acids. Res.* 2023;51(D1):D678–89. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1003>
8. Shu Y., McCauley J. GISAID: Global initiative on sharing all influenza data — from vision to reality. *Euro. Surveill.* 2017;22(13):30494. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494>
9. Hill V., Ruis C., Bajaj S., et al. Progress and challenges in virus genomic epidemiology. *Trends Parasitol.* 2021;37(12):1038–49. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.08.007>
10. Giovanetti M., Slavov S.N., Fonseca V., et al. Genomic epidemiology of the SARS-CoV-2 epidemic in Brazil. *Nat. Microbiol.* 2022;7(9):1490–500. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01191-z>
11. Klink G.V., Safina K.R., Nabieva E., et al. The rise and spread of the SARS-CoV-2 AY.122 lineage in Russia. *Virus Evol.* 2022;8(1):veac017. DOI: <https://doi.org/10.1093/ve/veac017>
12. Akimkin V., Semenenko T.A., Ugleva S.V., et al. COVID-19 epidemic process and evolution of SARS-CoV-2 genetic variants in the Russian Federation. *Microbiol. Res.* 2024;15(1):213–24.
13. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Плоскирева А.А. и др. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение I: проявления эпидемического процесса COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2022;99(3):269–286. Akimkin V.G., Popova A.Yu., Ploskireva A.A., et al. COVID-19: the evolution of the pandemic in Russia. Report I: manifestations of the COVID-19 epidemic process. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2022;99(3):269–286. DOI: [10.36233/0372-9311-276](https://doi.org/10.36233/0372-9311-276)
14. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Хафизов К.Ф. и др. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2022;99(4):381–396. Akimkin V.G., Popova A.Yu., Khafizov K.F., et al. COVID-19: evolution of the pandemic in Russia. Report II: dynamics of the circulation of SARS-CoV-2 genetic variants. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2022;99(4):381–396. DOI: [10.36233/0372-9311-295](https://doi.org/10.36233/0372-9311-295)
15. Акимкин В.Г., Семенов Т.А., Хафизов К.Ф. и др. Стратегия геномного эпидемиологического надзора. Проблемы и перспективы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2024;101(2):163–172. Akimkin V.G., Semenenko T.A., Khafizov K.F., et al. Genomic surveillance strategy. Problems and perspectives. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2024;101(2):163–172. DOI: [10.36233/0372-9311-507](https://doi.org/10.36233/0372-9311-507)
16. Hill V., Githinji G., Vogels C.B.F., et al. Toward a global virus genomic surveillance network. *Cell Host Microbe.* 2023;31(6):861–73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2023.03.003>
17. Lu R., Zhao X., Li J., et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020;395(10224):565–74. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
18. Corman V.M., Landt O., Kaiser M., et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):2000045. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
19. Rambaut A., Holmes E.C., O’Toole Á., et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat. Microbiol.* 2020;5(11):1403–7. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>
20. O’Toole Á., Scher E., Underwood A., et al. Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool. *Virus. Evol.* 2021;7(2):veab064. DOI: <https://doi.org/10.1093/ve/veab064>
21. Lan J., Ge J., Yu J., et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature.* 2020;581(7807):215–20. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
22. O’Toole Á., Pybus O.G., Abram M.E., et al. Pango lineage designation and assignment using SARS-CoV-2 spike gene nucleotide sequences. *BMC Genomics.* 2022;23(1):121. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08358-2>
23. Komissarov A.B., Safina K.R., Garushyants S.K., et al. Genomic epidemiology of the early stages of the SARS-CoV-2 outbreak in Russia. *Nat. Commun.* 2021;12(1):649. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20880-z>
24. Liu Y., Liu J., Plante K.S., et al. The N501Y spike substitution enhances SARS-CoV-2 infection and transmission. *Nature.* 2022;602(7896):294–9. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04245-0>
25. Lista M.J., Winstone H., Wilson H.D., et al. The P681H mutation in the spike glycoprotein of the Alpha variant of SARS-CoV-2 escapes IFITM restriction and is necessary for type I

- Interferon resistance. *J. Virol.* 2022;96(23):e0125022. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.01250-22>
26. Борисова Н.И., Котов И.А., Колесников А.А. и др. Мониторинг распространения вариантов SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus; Sarbecovirus) на территории московского региона с помощью таргетного высокопроизводительного секвенирования. *Вопросы вирусологии.* 2021;66(4):269–78. Borisova N.I., Kotov I.A., Kolesnikov A.A., et al. Monitoring the spread of the SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus; Sarbecovirus) variants in the Moscow region using targeted high-throughput sequencing. *Problems of Virology.* 2021; 66(4):269–78. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-72> EDN: <https://elibrary.ru/qdsujp>
 27. Aksamentov I., Roemer C., Hodcroft E., Neher R. Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *J. Open Source Softw.* 2021;6(67):3773. DOI: <https://doi.org/10.21105/joss.03773>
 28. Kumar R., Srivastava Y., Muthuramalingam P., et al. Understanding mutations in human SARS-CoV-2 spike glycoprotein: a systematic review & meta-analysis. *Viruses.* 2023;15(4):856. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15040856>
 29. Xiao B., Wu L., Sun Q., et al. Dynamic analysis of SARS-CoV-2 evolution based on different countries. *Gene.* 2024;916:148426. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2024.148426>
 30. Fernandes Q., Inchakalody V.P., Merhi M., et al. Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines. *Ann. Med.* 2022;54(1):524–40. DOI: <https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2031274>
 31. Raghvani J., du Plessis L., McCrone J.T., et al. Genetic epidemiology of early SARS-CoV-2 transmission dynamics, Gujarat, India. *Emerg. Infect. Dis.* 2022;28(4):751–8. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2804.212053>
 32. Kotov I., Saenko V., Borisova N., et al. Effective approaches to study the genetic variability of SARS-CoV-2. *Viruses.* 2022;14(9):1855. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14091855>

Информация об авторах

Котов Иван Андреевич — м.н.с. лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2416-5689>

Аглетдинов Матвей Рашидович — биоинформатик лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2249-7196>

Роев Герман Викторович — биоинформатик лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2353-5222>

Пимкина Екатерина Владимировна — м.н.с. научной группы геномных технологий лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0591-3525>

Надтока Максим Игоревич — н.с. научной группы геномных технологий лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0002-3217-0963>

Пересади́на Арина Валерьевна — биоинформатик лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0002-4981-6716>

Бухарина Анна Юрьевна — м.н.с. научной группы геномных технологий лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6892-3595>

Светличный Дмитрий Васильевич — м.н.с. научной группы геномных технологий лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0008-6864-2807>

Гончаров Сергей Евгеньевич — лаборант-исследователь научной группы геномных технологий лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0000-2842-5818>

Выходцева Анастасия Владимировна — технолог научной группы геномных технологий лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0005-1911-9620>

Борисова Надежда Ивановна — м.н.с. научной группы геномных технологий лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9672-0648>

Лысенков Владислав Геннадиевич — биоинформатик лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1468-1631>

Чанышев Михаил Дамирович — к.б.н., с.н.с. лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6943-2915>

Агабалаев Давид Накам оглы — биоинформатик лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8125-355X>

Information about the authors

Ivan A. Kotov — bioinformatician, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2416-5689>

Matvey R. Agletdinov — bioinformatician, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2249-7196>

German V. Roev — bioinformatician, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2353-5222>

Ekaterina V. Pimkina — junior researcher, Scientific group of genetic technology, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0591-3525>

Maksim I. Nadтока — researcher, Scientific group of genetic technology, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0002-3217-0963>

Arina V. Peresadina — bioinformatician, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0002-4981-6716>

Anna Yu. Bukharina — junior researcher, Scientific group of genetic technology, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6892-3595>

Dmitry V. Svetlichny — junior researcher, Scientific group of genetic technology, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0008-6864-2807>

Sergey E. Goncharov — laboratory assistant-researcher, Scientific group of genetic technology, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0000-2842-5818>

Anastasiya V. Vykhodtseva — technologist, Scientific group of genetic technology, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0005-1911-9620>

Nadezhda I. Borisova — junior researcher, Scientific group of genetic technology, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9672-0648>

Vladislav G. Lysenkov — bioinformatician, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1468-1631>

Mikhail D. Chanyshv — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6943-2915>

David N. oglu Agabalaev — bioinformatician, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8125-355X>

Саенко Валерия Владимировна — н.с. научной группы геномных технологий лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0952-0830>

Черкашина Анна Сергеевна — к.х.н., рук. научной группы генной инженерии и биотехнологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7970-7495>

Семененко Татьяна Анатольевна — д.м.н., профессор, научный консультант отдела эпидемиологии НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6686-9011>

Дубоделов Дмитрий Васильевич — к.м.н., с.н.с. лаб. вирусных гепатитов ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3093-5731>

Хафизов Камил Фаридович[✉] — к.б.н., зав. лаб. геномных исследований ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, khafizov@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0001-5524-0296>

Акимкин Василий Геннадьевич — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Участие авторов: *Котов И.А.* — методология, разработка программного обеспечения, курирование данных, проведение исследований, формальный анализ, визуализация результатов, написание оригинального черновика и обзора, редактирование; *Аглетдинов М.Р., Роев Г.В.* — методология, разработка программного обеспечения, курирование данных, проведение исследований, формальный анализ, написание обзора и редактирование; *Пимкина Е.В., Надтока М.И.* — проведение исследований, валидация результатов; *Пересадинова А.В.* — разработка программного обеспечения, курирование данных, проведение исследований, формальный анализ, визуализация результатов; *Бухарина А.Ю., Светличный Д.В., Гончаров С.Е., Выходцева А.В., Агабалаев Д.Н., Черкашина А.С.* — проведение исследований, валидация результатов; *Лысенков В.Г.* — программное обеспечение, курирование данных; *Чанышев М.Д.* — проведение исследований, валидация результатов, руководство; *Семененко Т.А.* — написание обзора и редактирование; *Дубоделов Д.В.* — курирование данных; *Хафизов К.Ф.* — концептуализация, руководство, администрирование проекта, написание оригинального черновика и обзора, редактирование, проведение исследований, методология, программное обеспечение, курирование данных; *Акимкин В.Г.* — концептуализация, ресурсы, руководство, администрирование проекта, написание обзора и редактирование, привлечение финансирования. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 24.06.2024;
принята к публикации 10.08.2024;
опубликована 29.08.2024

Valeriia V. Saenko — researcher, Scientific group of genetic technology, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0952-0830>

Anna S. Cherkashina — Cand. Sci. (Chem.), Head, Scientific group of genetic engineering and biotechnology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7970-7495>

Tatiana A. Semenenko — D. Sci. (Med.), Professor, Scientific advisor, Epidemiology department, National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6686-9011>

Dmitry V. Dubodelov — senior researcher, Laboratory of viral hepatitis, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3093-5731>

Kamil F. Khafizov[✉] — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory for genomic research, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, khafizov@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0001-5524-0296>

Vasily G. Akimkin — D. Sci. (Med.), Professor, Full Member of RAS, Director, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Author contributions: *Kotov I.A.* — methodology, software, data curation, investigation, formal analysis, visualization, writing of original draft and review, editing; *Agletdinov M.R., Roev G.V.* — methodology, software, data curation, investigation, formal analysis, writing of review, editing; *Pimkina E.V., Nadтока M.I.* — investigation, validation; *Peresadina A.V.* — software, data curation, investigation, formal analysis, visualization; *Bukharina A.Yu., Svetlichny D.V., Goncharov S.E., Vykhodtseva A.V., Agabalaev D.N., Cherkashina A.S.* — investigation; *Borisova N.I.* — investigation, validation; *Lysenkov V.G.* — software, data curation; *Chanyshev M.D.* — investigation, writing of review, editing; *Saenko V.V.* — investigation, validation, supervision; *Semenenko T.A.* — writing of review, editing; *Dubodelov D.V.* — data curation; *Khafizov K.F.* — conceptualization, supervision, project administration, writing of original draft and review, editing, investigation, methodology, software, data curation; *Akimkin V.G.* — conceptualization, resources, supervision, project administration, writing of review, editing, funding acquisition. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the article, acquisition, analysis, interpretation of data for the article, drafting and revising the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 24.06.2024;
accepted for publication 10.08.2024;
published 29.08.2024

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-525>



Сибирская язва в Российской Федерации в 2023 году, или «старая сказка о главном»

Куличенко А.Н.^{1✉}, Рязанова А.Г.¹, Логвин Ф.В.², Еременко Е.И.¹, Аксенова Л.Ю.¹, Писаренко С.В.¹, Семёнова О.В.¹, Герасименко Д.К.¹, Ковалев Д.А.¹, Головинская Т.М.¹, Бобрышева О.В.¹, Печковский Г.А.¹, Олейникова К.А.¹, Никитина А.В.¹

¹Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

²Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Введение. Современная ситуация по сибирской язве (СЯ) в России характеризуется неустойчивостью. В 2023 г. отмечено увеличение числа вспышек инфекции по сравнению со средним многолетним показателем (за 5 лет).

Цель работы — оценка эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по СЯ, сложившейся в России в 2023 г., и причин её ухудшения, анализ данных геномного эпидемиологического надзора за этой инфекцией.

Материалы и методы. Использовали информацию территориальных органов Роспотребнадзора о расхождении вспышек СЯ, справочные материалы о стационарно неблагополучных по СЯ пунктах и сибиреязвенных захоронениях. Филогенетическое положение идентифицированных штаммов *Bacillus anthracis* и структуру геномов определяли на основе данных полногеномного секвенирования.

Результаты. В 2023 г. вспышки СЯ зарегистрированы в Чувашской Республике (1), Республике Тыва (1), Тамбовской (1), Рязанской (1) и Воронежской (3) областях. Заболело 14 сельскохозяйственных животных и 19 человек. Заражение животных, не вакцинированных против СЯ, а также привитых задолго до контакта с источником инфекции, происходило преимущественно при выпасе на территориях старых (неучтённых) почвенных очагов СЯ. Заболевание людей обусловлено контактом с больными животными при уходе, вынужденном убое, разделке, транспортировке туш и мяса, кулинарной обработке заражённого мяса и субпродуктов, употреблением в пищу недостаточно термически обработанного ливера. У 17 заболевших диагностирована кожная форма СЯ, у 2 — орофарингеальная форма в сочетании с кожной формой болезни. Во всех случаях установлена типичная для вида *B. anthracis* структура геномов. Показана филогенетическая связь изолятов со штаммами *B. anthracis*, ранее выделенными в России.

Заключение. Причиной неблагополучия по СЯ в 2023 г. стал ряд нарушений ветеринарного и санитарно-эпидемиологического нормирования на фоне наличия почвенных очагов инфекции. Стабилизация обстановки может быть достигнута только при постоянной реализации в полном объёме комплекса регламентированных профилактических мероприятий. Результаты молекулярно-генетического типирования штаммов *B. anthracis*, выделенных в ходе эпидемиологического расследования 7 вспышек СЯ на территории России в 2023 г., позволяют сделать вывод об их местном происхождении и типичной для вида структуре генома. Генетический анализ изолированных штаммов показал эффективность применения разработанной системы wgSNP-типирования при эпидемиологическом расследовании вспышек.

Ключевые слова: сибирская язва, почвенный очаг, *Bacillus anthracis*, полногеномное секвенирование

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Ставропольского государственного медицинского университета (заключение № 109 от 19.05.2022).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Куличенко А.Н., Рязанова А.Г., Логвин Ф.В., Еременко Е.И., Аксенова Л.Ю., Писаренко С.В., Семёнова О.В., Герасименко Д.К., Ковалев Д.А., Головинская Т.М., Бобрышева О.В., Печковский Г.А., Олейникова К.А., Никитина А.В. Сибирская язва в Российской Федерации в 2023 году, или «старая сказка о главном». *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):448–461.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-525>

EDN: <https://www.elibrary.ru/anetvp>

Anthrax in the Russian Federation in 2023 or in other words, «the same old story»

Alexandr N. Kulichenko¹✉, Alla G. Ryazanova¹, Fedor V. Logvin², Evgeny I. Eremenko¹,
Lyudmila Yu. Aksenova¹, Sergey V. Pisarenko¹, Olga V. Semenova¹, Diana K. Gerasimenko¹,
Dmitry A. Kovalev¹, Tatyana M. Golovinskaya¹, Olga V. Bobrysheva¹, Grigorii A. Pechkovskii¹,
Kseniya A. Oleynikova¹, Anna V. Nikitina¹

¹Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia;

²Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Introduction. The current anthrax situation in Russia is characterized by instability. In 2023, there was an increase in the number of infection outbreaks compared to the long-term average (for five years).

The aim of the study is to assess the epizootological and epidemiological situation regarding anthrax in the Russian Federation in 2023 and the reasons for its deterioration, and to analyze data from genomic epidemiological surveillance of this infection.

Materials and methods. The information of the territorial bodies of Rospotrebnadzor on the investigation of anthrax outbreaks, reference materials about anthrax stationary hazardous areas and anthrax burials were used. The phylogenetic position of the identified *Bacillus anthracis* strains and genomes structure were determined based on whole-genome sequencing data.

Results. In 2023 anthrax outbreaks were registered in the Chuvash Republic—Chuvashia (1), the Tyva Republic (1), Tambov (1), Ryazan (1) and Voronezh (3) regions. 14 farm animals and 19 people fell ill. The infection of animals not vaccinated against anthrax, as well as vaccinated long before contact with the source of infection, occurred mainly during grazing in the territories of old (unregistered) anthrax soil foci. Human disease is caused by contact with sick animals during care, forced slaughter, cutting, transportation of carcasses and meat, cooking processing of contaminated meat and offal, and consumption of insufficiently heat-treated liver. 17 patients were diagnosed with a cutaneous form of anthrax, while 2 had an oropharyngeal form combined with a cutaneous form of the disease.

In all cases, the genome structure typical of the *B. anthracis* species has been established. The phylogenetic relationship of *B. anthracis* isolates with *B. anthracis* strains previously isolated in Russia is shown.

Conclusion. The reason for the trouble in anthrax in 2023 was a number of violations of veterinary and sanitary-epidemiological regulations against the background of the presence of soil foci of infection. Stabilization of the situation can be achieved only in full range of regulated preventive measures are constantly implemented. The results of molecular genetic typing of *B. anthracis* strains isolated during the epidemiologic investigation of seven anthrax outbreaks in the Russian Federation in 2023 allow us to conclude that they are of local origin and have a genome structure typical of the species. Genetic analysis of the isolated strains demonstrated the effectiveness of the developed wgSNP typing system in the epidemiologic investigation of outbreaks.

Keywords: anthrax, soil focus, outbreak, *Bacillus anthracis*, whole genome sequencing

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Local Ethics Committee of the Stavropol Research Anti-Plague Institute (protocol No. 109, May 19, 2022).

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Kulichenko A.N., Ryazanova A.G., Logvin F.V., Eremenko E.I., Aksenova L.Yu., Pisarenko S.V., Semenova O.V., Gerasimenko D.K., Kovalev D.A., Golovinskaya T.M., Bobrysheva O.V., Pechkovskii G.A., Oleynikova K.A., Nikitina A.V. Anthrax in the Russian Federation in 2023 or in other words, «the same old story». *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(4):448–461.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-525>
EDN: <https://www.elibrary.ru/anetvp>

Введение

Сибирская язва (СЯ) — особо опасное зоонозное заболевание, распространённое в мире практически повсеместно [1, 2]. Опасность болезни обу-

словлена способностью её возбудителя — *Bacillus anthracis* к образованию высокоустойчивых к воздействию факторов окружающей среды спор, которые, однажды попав в почву, сохраняют жизнеспособ-

способность десятилетиями, формируя стойкие почвенные очаги инфекции.

В прошлом СЯ восприимчивых животных и людей в России имела широкое распространение. С 1900 г. в России зафиксировано свыше 70 000 вспышек СЯ животных и людей на территории более 35 000 стационарно неблагополучных по СЯ пунктов (СНП) [3]. Так, в 1920-е гг. количество случаев заболевания среди животных ежегодно измерялось десятками тысяч (142 800 животных в 1920–1923 гг.), людей — тысячами (9037 за тот же период), а в отдельные годы регистрировалось свыше 10 тыс. случаев болезни людей в год (46 326 заболевших в 1924–1926 гг.) [4]. Благодаря внедрению с 1950-х гг. массовой профилактической иммунизации сельскохозяйственных животных и контингентов повышенного риска заражения при профессиональном контакте со скотом и продуктами животноводства было достигнуто разительное снижение уровней заболеваемости как животных, так и людей [5].

Современная ситуация по СЯ в России характеризуется неустойчивостью. Если в 2018–2022 гг. отмечались единичные случаи заболевания животных (1–3 в год) и людей (2–5 в год), а в 2017 г. СЯ вообще не отмечалась [6–8], то в 2016 г. была зарегистрирована крупнейшая эпизоотия в Ямало-Ненецком автономном округе с заболеванием более 2650 северных оленей и 36 человек с 1 летальным исходом [9].

В 2023 г. в России вновь зафиксировано ухудшение обстановки по СЯ, что обуславливает необходимость анализа причин, приведших к неблагополучию по данной инфекции.

В настоящее время в связи с развитием технологий секвенирования накопился большой массив данных о геномных последовательностях микроорганизмов. Метод секвенирования полного генома применяется для изучения структуры последовательностей геномов, филогенетического анализа изолятов и с успехом используется в процессе эпидемиологического расследования вспышек инфекционных болезней, в том числе СЯ [10–13]. В связи с этим активное совершенствование и внедрение методов геномного эпидемиологического надзора представляется особенно актуальным.

Цель работы — оценка эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по СЯ, сложившейся в России в 2023 г., и причин её ухудшения, анализ данных геномного эпидемиологического надзора за этой инфекцией.

Материалы и методы

При выполнении работы использовали информацию Управлений Роспотребнадзора по Чувашской Республике, Республике Тыва, Тамбовской, Рязанской, Воронежской областям о расследовании

вспышек СЯ в соответствующих субъектах в 2023 г. С целью проведения ретроспективного анализа ситуации по СЯ на этих территориях применяли официальные справочные материалы о СНП [3], сибиреязвенных захоронениях (СЯЗ) [14–16], а также базы данных СНП и СЯЗ, созданные в 2023 г., на основании актуализированной информации¹.

Все обследуемые дали информированное добровольное согласие на участие в настоящих исследованиях. Клинические исследования одобрены локальным этическим комитетом Ставропольского государственного медицинского университета (заключение № 109 от 19.05.2022).

Все манипуляции с лабораторными животными проводили согласно «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18.03.1986 ETS № 123)..

Лабораторную диагностику СЯ и идентификацию 32 культур *B. anthracis*, выделенных в 2023 г. из клинического материала (7), материала животного происхождения (17) и объектов окружающей среды (8), осуществляли в соответствии с методическими указаниями «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы»².

Секвенирование геномов *B. anthracis* проводили с использованием платформы для высокопроизводительного секвенирования DNBSEQ50RS («BGI»). Генотипирование 1169 штаммов *B. anthracis* (302 штамма из коллекции Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора, 867 последовательностей геномов штаммов из международной базы данных GenBank) на основе wg-SNP было выполнено с помощью Parsnp [17]. Полученные SNP-профили использовали для построения филогенетической реконструкции по методу максимального правдоподобия в соответствии с моделью Tamura–Nei [18] в программе «Mega10». Для визуализации филогенетического дерева использовали программу «FigTree» (Tree Figure Drawing Tool v. 1.4.3) [19].

Геномные последовательности штаммов *B. anthracis* из коллекции Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора представлены в электронной базе данных «Нуклеотидные последовательности полных геномов штаммов возбудителя *B. anthracis*, выделенных на территории России и сопредельных стран» (свидетельство о государственной регистрации № 2022620144 от 18.01.2022),

¹ База данных «Стационарно неблагополучные по сибирской язве пункты на территории Российской Федерации», свидетельство о государственной регистрации от 01.08.2024 № 2024623389.

² Методические указания МУК 4.2.2413-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы» (утв. Руководителем Роспотребнадзора 29.07.2008).

в электронной базе данных Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора «Полногеномные последовательности штаммов *B. anthracis*» (рег. № В.ab-R-1 – В.ab-R-302) и могут быть предоставлены по запросу (stavnipchi@mail.ru).

Результаты

С марта по сентябрь 2023 г. в России зарегистрировано 7 вспышек СЯ в 5 субъектах 3 федеральных округов РФ: Приволжского, Сибирского и Центрального (таблица).

Первая вспышка СЯ в России в 2023 г. зафиксирована в марте в Чувашской Республике. В личном подсобном хозяйстве жителя д. Старое Акташево Цивильского района был произведён вынужденный убой бычка без уведомления ветеринарных специалистов, после чего заболел 1 из 4 участников, наиболее активно участвовавший в убое. В процессе кулинарной обработки субпродуктов от крупного рогатого скота (КРС) произошло инфицирование супруги владельца больного бычка.

Выявлено, что животное не состояло на учёте и не было привито против СЯ. При эпидемиологическом расследовании установлен факт продажи хозяином на трассе неизвестным лицам КРС мяса и шкуры бычка, которые в ходе эпидемиологического расследования вспышки были своевременно изъяты и уничтожены.

Клинический диагноз кожной формы СЯ у заболевших подтверждён специалистами Референс-центра по мониторингу за возбудителем СЯ (далее — Референс-центр), функционирующего на базе Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора, и Центра гигиены и эпидемиологии в Чувашской Республике методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) — на основании обнаружения ДНК возбудителя СЯ в пробах кожных аффектов, а также положительных результатов дополнительных иммунологических методов: выявление специфических противосибирезвенных антител непрямым методом флуоресцирующих антител, аллерготестом с сибирезвенным аллергеном *in vitro* с помощью проточной цитометрии. Из источника инфекции — мяса бычка — выделена культура *B. anthracis*.

Вторая вспышка инфекции СЯ была зафиксирована в июне в Барун-Хемчикском районе Республики Тыва с заболеванием 2 невакцинированных против СЯ лошадей, одна из которых была подвергнута вынужденному убою, а вторая пала. Всего заболело 5 человек; 2 заболевших, проводивших несанкционированный вынужденный убой больной лошади на частной чабанской стоянке вблизи с. Бижиктиг-Хая, также употребили в пищу полу-сырую печень забитого животного, и кожным проявлениям инфекции у них предшествовало формирование воспалительных очагов в ротоглотках. На основании клинических данных, положительной

ПЦР — выявление ДНК *B. anthracis* как в мазках из зева, так и в образцах кожных аффектов, больным был установлен диагноз орофарингеальной формы СЯ в сочетании с кожной формой болезни. Благодаря своевременной диагностике и безотлагательному началу интенсивной терапии прогностически неблагоприятной ротоглоточной формы инфекции удалось избежать летальных исходов.

В связи с отправкой заражённого мяса на продажу в мясную лавку в г. Ак-Довурак кожной формой СЯ заболели 3 человека, диагноз у которых был установлен на основании положительных результатов ПЦР: транспортировщик мяса, сын продавщицы лавки и покупательница, которая приобрела говяжий фарш в этой торговой точке. Установлено, что мясо КРС, из которого был изготовлен фарш, было контаминировано при хранении в холодильнике по соседству с заражённой кониной, доставленной из очага в с. Бижиктиг-Хая, при лабораторном исследовании которой в Тувинской противочумной станции Роспотребнадзора выделена культура *B. anthracis*.

Эпизоотический очаг с заболеванием одной головы КРС был выявлен в июне в Бондарском районе Тамбовской области — на пастбище, расположенном в 3 км от д. Шача Молоканская Митропольского сельского совета. Это единственная в 2023 г. вспышка СЯ среди скота, не повлекшая эпидемических осложнений. Пробы материала для исследования в Референс-центр направлены не были.

В июне в ООО «Путь Ленина» Захаровского района Рязанской области пало 6 голов КРС, выпас которых осуществлялся на летнем пастбище в с. Старое Зимино. В результате непосредственного контакта с больными животными СЯ заболел скотник. По данным ветеринарной службы региона, плановая специфическая иммунизация скота проведена в октябре–ноябре 2022 г. Однако сотрудники ООО «Путь Ленина», включая заболевшего, не были вакцинированы против СЯ.

Диагноз СЯ у 2 голов КРС был установлен Рязанской облветлабораторией по результатам бактериологического исследования проб патологического материала. В ходе эпидемиологического расследования специалистами Роспотребнадзора были изолированы культуры сибирезвенного микроба из проб почвы и воды, отобранных в местах падежа животных. Клинический диагноз кожной формы инфекции у больного подтверждён обнаружением ДНК *B. anthracis* в соскобе со струпа кожного аффекта.

В 2023 г. особое внимание было сосредоточено на ситуации по СЯ в Воронежской области, где в августе–сентябре в 3 районах области зафиксированы 3 вспышки инфекции с заболеванием 11 человек.

Первый очаг выявлен в августе в Панинском районе, где заболел владелец личного подсобного

Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по СЯ в России в 2023 г.
Epizootological and epidemiological situation on anthrax in the Russian Federation in 2023

№ п/п No. in order	Федеральный округ РФ Federal District of the RF	Субъект РФ Subject of the RF	Муниципальный район, населённый пункт Municipal district, locality	Количество и вид заболевших сельскохозяйственных животных Number and type of sick livestock	Количество заболевших людей Number of sick people	Предыдущая вспышка Previous outbreak
1	Приволжский Privolzhsky	Чувашская Республика — Чувашия Chuvash Republic — Chuvashia	Цивильский район, д. Старое Акташево Tsivil'skiy district, v. Staroe Aktashevo	1 КРС 1 cattle	2	1930
2	Сибирский Siberian	Республика Тыва Tyva Republic	Барун-Хемчикский район, с. Бижикиг-Хая Barun-Khemchikskiy district, v. Bizhikigtig-Khaya	2 лошади 2 horses	5	2021
3	Центральный Central	Тамбовская область Tambov region	Бондарский район, д. Шача Молоканская Bondarskiy district, v. Shacha Molokanskaya	1 КРС 1 cattle	-	1959
4	Центральный Central	Рязанская область Ryazan region	Захаровский район, с. Старое Зимино Zakharovskiy district, v. Staroe Zimino	6 КРС 6 cattle	1	1944
5	Центральный Central	Воронежская область Voronezh region	Панинский район, с. Красные Холмы Paninskiy district, v. Krasnye Holmy	1 КРС 1 cattle	1	1958
6	Центральный Central	Воронежская область Voronezh region	Богучарский район, с. Лебединка Bogucharskiy district, v. Lebedinka	2 КРС 2 cattle	9	1952
7	Центральный Central	Воронежская область Voronezh region	Новоусманский район, совхоз Крыловский Novousmanskiy district, farm Krylovskiy	1 КРС 1 cattle	1	1948
Всего Total	3	7	7	12 КРС, 2 лошади 12 cattle, 2 horses)	19	1930–2021

Примечание. КРС — крупный рогатый скот.

хозяйства в с. Красные Холмы после проведения без уведомления ветеринаров вынужденного убоя 1 головы КРС. Животное не было вакцинировано против СЯ. Хозяин реализовал мясо неизвестным лицам, и в результате розыскных мероприятий было установлено, что перекупщики продали мясо предпринимателю одного из рынков г. Воронежа, где оно оперативно было изъято практически в полном объёме, а остатки заражённого мяса были обнаружены в г. Семилуки и с. Новая Ольшанка. При исследовании материала специалистами Центра гигиены и эпидемиологии в Воронежской области и Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора из проб шкуры и мяса КРС выделена культура *B. anthracis*, в образцах патологических кожных аффектов больного обнаружена ДНК возбудителя СЯ.

В сентябре в Богучарском районе зарегистрирована крупная вспышка с заболеванием 2 голов КРС и 9 человек. Заражение 5 человек произошло в процессе вынужденного убоя 1 головы КРС, проведённого в крестьянском (фермерском) хозяйстве (КФХ) в с. Лебединка без ветеринарного осмотра, последующей разделки туши и мяса. Второе животное пало и было захоронено на территории КФХ.

Установлено, что поголовье коров в КФХ привакцинировано не в полном объёме, при этом заболевшие животные не были иммунизированы в плановом порядке. Работники КФХ от СЯ также не прививались. При расследовании определено, что владелец КФХ часть мяса транспортировал в собственное кафе, а остальное продал в месте несанкционированной торговли хозяину ещё одного кафе и случайным лицам. В итоге при контакте с приобретённым мясом СЯ заболели ещё 4 человека.

В процессе исследования материала культуры возбудителя СЯ изолированы из образцов клинического материала, мяса и шкур КРС. Также были получены положительные результаты ПЦР при исследовании мясных полуфабрикатов из кафе владельца КФХ, предназначенных для реализации и питания сотрудников его КФХ.

Диагноз кожной формы СЯ у пациентов также подтверждён выявлением ДНК *B. anthracis* в пробах кожных аффектов, специфических антител и положительными результатами аллелготеста.

Третий очаг инфекции зафиксирован в Новоусманском районе. Заболел 1 работник КФХ в совхозе Крыловском после контакта с тушей павшего КРС. Клинический диагноз был подтверждён по результатам ПЦР и иммунологических методов исследования в Референс-центре.

Всего в процессе вспышек выделены 32 культуры возбудителя СЯ. Окончательная идентификация, проведённая в Референс-центре с использованием основных и дополнительных бактериологических тестов, показала, что все изоляты являются

типичными вирулентными культурами *B. anthracis* с высокой чувствительностью к антибактериальным препаратам, применяемым для лечения СЯ у людей (пеницилинам, карбапенемам, тетрациклинам, фторхинолонам, аминогликозидам, рифампицину).

В результате молекулярно-генетического типирования определена принадлежность культур, изолированных в Чувашской Республике, Рязанской и Воронежской областях, к основной генетической кладе А, *can*SNP-группе А.Br.008/009 (А.Br.008/011) широко распространённой трансевразийской субклады, а изолята, выделенного в Республике Тыва, — к *can*SNP-группе В.Br.001/002 основной генетической клады В.

По данным полногеномного секвенирования установлено, что все штаммы имеют типичную структуру генома и содержат набор генов вирулентности, характерный для вида *B. anthracis*.

Филогенетический анализ, проведённый на основе *wg*-SNP-типирования более 1100 штаммов *B. anthracis* из коллекции Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора и геномов из международной базы данных GenBank, показал, что штамм, выделенный в Чувашской Республике, относится к линии А.Br.118 (STI) (субкластер 2 кластера А.Br.125) и имеет наиболее близкое родство со штаммами *B. anthracis*, ранее выделенными во время вспышек СЯ в Волгоградской области (Быковский район, 1985 г.) и Саратовской области (Балашовский район, 2015 г.) (рис. 1).

Культуры из Панинского района Воронежской области и Захаровского района Рязанской области принадлежат линии А.Br.117 (Tsiankovskii), кластеру А.Br.215, а наиболее близким к ним является штамм, выделенный в Аннинском районе Воронежской области в 1982 г. (рис. 2).

Штаммы, изолированные в Богучарском районе Воронежской области, также относятся к линии А.Br.117 (Tsiankovskii) и кластеризуются со штаммами, выделенным в Ставропольском крае (Петровский район — 1959 г., Новоселицкий район — 2001 г.), Волгоградской области (Октябрьский район, 2014 г.), Калужской области (Козельский район, 1989 г.), Республике Ингушетия (Малгобекский район, 1968 г.), Рязанской области (1981 г.), Республике Калмыкия (Городовиковский район, 2002 г.) (рис. 2).

Культура, выделенная в Барун-Хемчикском районе Республики Тыва, принадлежит к кластеру В.Br.013 «Азия» линии В.Br.012 и имеет близкое филогенетическое родство со штаммами, выделенными в этом же районе республики в 2018 и 2021 гг. (субкластер 1 на рис. 3).

Обсуждение

По определению, СНП имеют на своей территории почвенные очаги СЯ, которыми являются

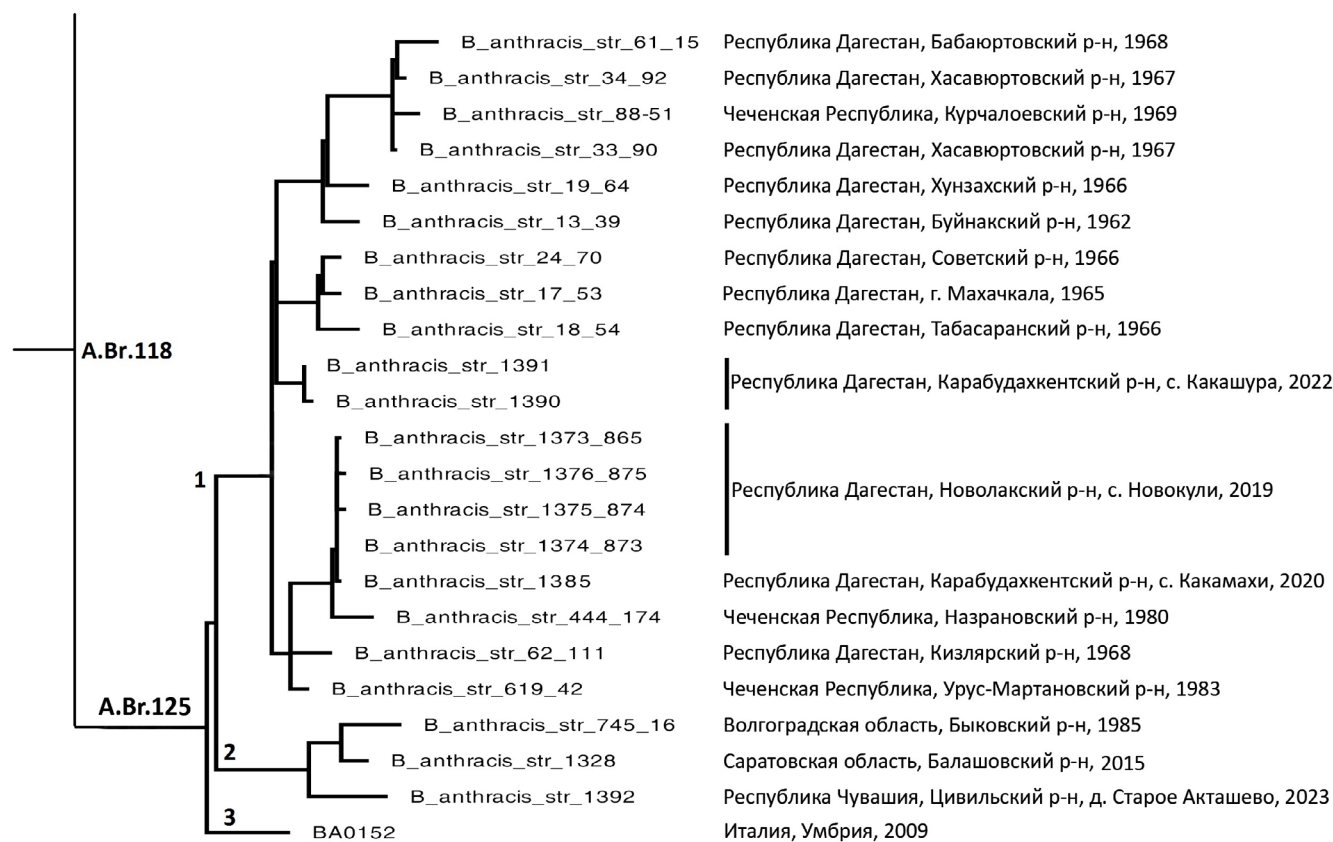


Рис. 1. Филогенетическое положение штаммов *B. anthracis*, выделенных в Чувашской Республике (2) и Республике Дагестан (1). Фрагмент дендрограммы, реконструированной на основе wg-SNP-анализа методом максимального правдоподобия в соответствии с моделью Tamura–Nei.

Fig. 1. Phylogenetic position of *B. anthracis* strains isolated in the Chuvash Republic — Chuvashia (2) and the Dagestan Republic (1). Fragment of dendrogram reconstructed on the basis of wg-SNP-analysis by method Maximum Likelihood according to Tamura–Nei model.

ся СЯЗ [20]. Однако количество СНП, а тем более вспышек СЯ в десятки раз больше числа учтённых СЯЗ. В Республике Тыва при регистрации более 300 вспышек в 154 СНП с 1910 г. имеется информация лишь об 11 местах захоронения трупов/зольных остатков сибиреязвенных животных (из которых 7 — места сжигания туш в 2018–2023 гг.). В Чувашской Республике, где с 1901 г. имели место более 3600 очагов инфекции в 1231 СНП, по состоянию на 2013 г. было зарегистрировано 397 СЯЗ [16], однако, в соответствии с постановлением Кабинета министров Чувашской Республики, в 2015 г. ликвидировано 345 захоронений, в том числе в д. Старое Акташево. В Воронежской области, где с 1902 г. зафиксировано 780 СНП, на учёте состоял 81 СЯЗ [14], но, согласно приказу Управления ветеринарии Воронежской области, в 2011 г. они были исключены из регионального реестра. А в Рязанской области, в которой, начиная с 1901 г., отмечено более 1900 вспышек инфекции на территории свыше 900 СНП, и в Тамбовской области, где известно об активности почти 700 СНП более 1600 раз с 1929 г., не учтено ни одного СЯЗ [14]. Таким обра-

зом, на территории субъектов РФ, в которых в 2023 г. отмечены вспышки СЯ, имеется огромное число безнадзорных мест захоронения животных, являющихся почвенными очагами СЯ, — неизвестных, ввиду исторически сложившегося отсутствия их регистрации или неполного учёта ветеринарными службами в нарушение ветеринарной нормативной базы о необходимости документальной фиксации СЯЗ и надзора за ними³, и снятых с учёта.

Эпидемиологическое расследование вспышки и ретроспективный анализ ситуации по СЯ на территории субъектов, в которых были выявлены очаги в 2023 г., проведённый в соответствии с региональными актуализированными базами данных СНП,

³ Инструкция «О мероприятиях против сибирской язвы» (утв. МСХ СССР 28.02.1953); Инструкция «О мероприятиях против сибирской язвы» (утв. ГУВ МСХ СССР 05.06.1981, с изменениями от 12.11.1982); Санитарные правила (СП 3.1.089-96) и Ветеринарные правила (ВП 13.3.1320-96) «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных», раздел 6 «Сибирская язва» (утв. Госкомсанэпиднадзором РФ 31.05.1996 № 11, Минсельхозпродом РФ 18.06.1996 № 23).



Рис. 2. Результаты филогенетического анализа штаммов *B. anthracis*, изолированных в Воронежской и Рязанской областях, Ставропольском крае. Приведён фрагмент дендрограммы, реконструированной на основе wg-SNP-анализа методом максимального правдоподобия в соответствии с моделью Tamura–Nei.

Fig. 2. Results of phylogenetic analysis of *B. anthracis* strains isolated in the Voronezh and Ryazan regions, Stavropol Territory. Fragment of dendrogram reconstructed on the basis of wg-SNP-analysis by method Maximum Likelihood according to Tamura–Nei model.

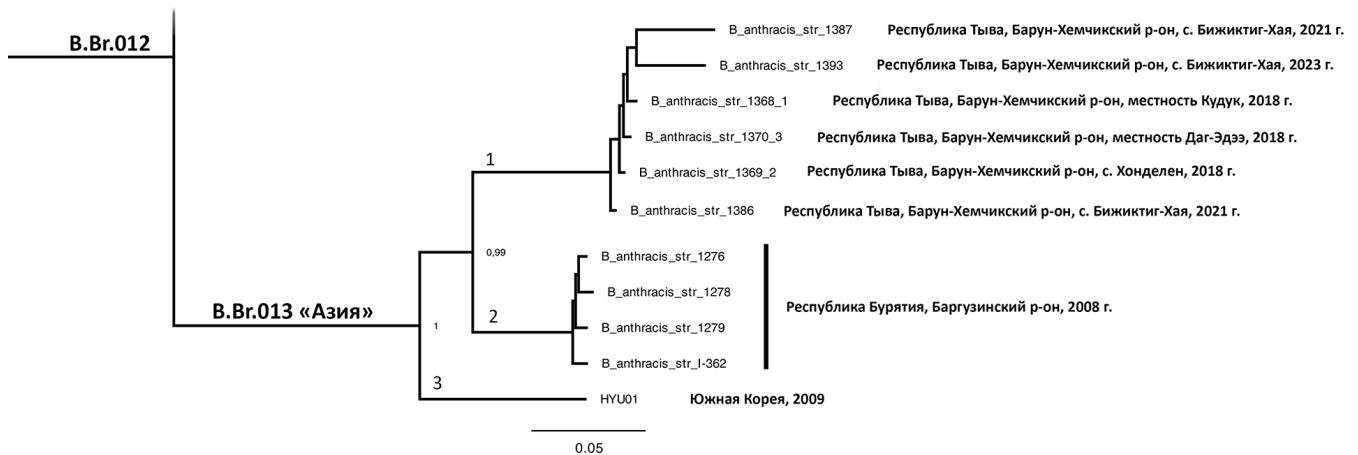


Рис. 3. Филогенетическое положение штаммов *B. anthracis*, выделенных в Республике Тыва (1) и Республике Бурятия (2).

Фрагмент дендрограммы, реконструированной на основе wg-SNP-анализа методом максимального правдоподобия в соответствии с моделью Tamura–Nei.

Fig. 3. Phylogenetic position of *B. anthracis* strains isolated in the Tyva Republic (1) and the Buryatia Republic (2).

Fragment of dendrogram reconstructed on the basis of wg-SNP-analysis by method Maximum Likelihood according to Tamura–Nei model.

СЯЗ, сведениями Кадастра [3], перечней скотомогильников [14–16], показали следующее.

В Цивильском районе Чувашской Республики в 1901–1979 гг. СЯ регистрировалась 155 раз в 72 СНП. Деревня Старое Акташево является СНП с проявлениями активности в 1929 и 1930 гг. На расстоянии 1 км от деревни расположено СЯЗ, организованное в 1930 г. Установлено, что выпас КРС вблизи СЯЗ был невозможен в связи с наличием в марте 2023 г. стойкого снежного покрова и отсутствия растительности; не исключено заражение животного в процессе употребления корма, заготовленного ранее на территории СЯЗ.

С 1929 г. СЯ в Барун-Хемчикском районе Республики Тыва отмечалась более 40 раз, однако не было учтено ни одного СЯЗ. Предыдущая вспышка на территории этого района имела место в 2021 г. в с. Бижикиг-Хая [21]. Ранее неблагополучие в селе зафиксировано не было, однако расследование показало, что выпас скота из с. Бижикиг-Хая и с. Кызыл-Мажалык, расположенного на расстоянии 6 км от анализируемого села, осуществляется на общем пастбище, а с. Кызыл-Мажалык является СНП с пятикратным проявлением активности с 1941 г. по 1989 г. Таким образом, заражение скота как в 2023 г., так и в 2021 г., происходило во время выпаса на территории старых почвенных очагов на территории пастбища. До этого, в 2018 г., в Барун-Хемчикском районе зафиксированы 3 очага (в с. Хонделен и двух близкорасположенных местностях — Кудук, Даг-Эдээ урочища Эдегей), в которых СЯ в прошлом отмечалась многократно с последними проявлениями в 1950 г. и 1982 г. соответственно. Также было выявлено, что возникновению эпизоотических очагов в 2018, 2021 и 2023 гг. предшествовали ливне-

вые дожди, чередующиеся с высокой температурой окружающей среды, — сложилась так называемая «сибирезвенная погода» [22–24]. Это способствовало выходу спор возбудителя СЯ на поверхность почвенных очагов с последующим высушиванием и распространением, что облегчало заражение скота аспирационным и алиментарным путями при выпасе.

В Бондарском районе Тамбовской области в 1933–1974 гг. в 26 пунктах зафиксировано более 50 вспышек СЯ. На территории Митропольского сельского совета, в состав которого входит д. Шача Молоканская, СЯ регистрировалась 16 раз в 1933–1959 гг., в связи с чем совершенно очевидно наличие здесь почвенных очагов — старых захоронений павших животных, в том числе на пастбище, где, вероятно, и произошло заражение КРС.

Известно о 71 вспышке СЯ в 26 населенных пунктах Захарьевского район Рязанской области в 1904–1980 гг., но учтённых СЯЗ в районе нет. Село Старое Зимино, где располагается летнее пастбище ООО «Путь Ленина», относится к СНП с проявлениями активности в 1911 и 1944 гг. Отмечено, что возникновению эпизоотии в Рязанской области, как и в Республике Тыва, предшествовали обильные осадки и жаркая погода, способствовавшие активизации почвенных очагов, что привело к инфицированию во время выпаса на территории старого СЯЗ с неизвестной локализацией даже иммунизированных животных.

В Панинском районе Воронежской области в 1938–1984 гг. на территории по меньшей мере 28 учтённых СНП зафиксировано 70 вспышек инфекции. СЯ в с. Красные Холмы — первом очаге Воронежской области 2023 г. — была отмечена в 1955 и 1958 гг. В районе ранее было зарегистриро-

вано одно СЯЗ в с. Чернавка. На территории Богучарского района Воронежской области зарегистрировано 34 СНП, в которых в 1948–1981 гг. отмечено 74 вспышки. СЯЗ в районе не числятся. Данные о регистрации случаев СЯ в с. Лебединка, где отмечена вторая вспышка в области, отсутствуют, однако очаги инфекции регистрировались в других близкорасположенных населённых пунктах сельского поселения Первомайского, в состав которого входит данное село (с. Плесновка в 1948 г., х. Батовка в 1952 г.). В Новоусманском районе Воронежской области, в котором имела место третья вспышка инфекции, учтено 20 СНП с проявлениями активности 42 раза в 1941–1997 гг. и ранее было зарегистрировано одно СЯЗ (с. Петропавловка). Согласно архивным данным, не исключена регистрация СЯ в 1948 г. на территории, где в настоящее время располагается совхоз Крыловский. Таким образом, заражение животных в Воронежской области также происходило при выпасе на территориях старых сибиреязвенных почвенных очагов.

Формированию неблагополучия в 2023 г. по СЯ послужил ряд нарушений требований законодательства в области ветеринарии⁴, обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения⁵ и принятых в соответствии с ним нормативно-правовых актов⁶. В первую очередь — сокрытие скота при учёте владельцами личных подсобных хозяйств в Чувашской Республике, Панинском районе Воронежской области, Республике Тыва и КФХ в Богучарском районе Воронежской области, в результате чего сельскохозяйственные животные не были охвачены специфической иммунизацией в плановом порядке, что стало причиной заболевания животных при контакте с возбудителем. Причины заболевания 6 голов КРС в Рязанской области, привитых от СЯ, вероятно, связаны с тем, что плановая

вакцинация была осуществлена осенью 2022 г., т.е. задолго до наиболее опасного в отношении заражения СЯ весенне-летнего сезона, и не обеспечила сохранения должного иммунитета у животных; заражению могло способствовать поступление в организм массивной дозы возбудителя, а также реализация трансмиссивного механизма передачи сибиреязвенного микроба от заболевшего животного остальным посредством укусов кровососущих насекомых. Сведения об иммунизации сельскохозяйственных животных в очагах Тамбовской области и Новоусманского района Воронежской области отсутствуют, очевидно, что заболевшие животные также не были учтены и, соответственно, не привиты от СЯ в плановом порядке.

Следующее нарушение, повлекшее заражение людей, состоит в проведении вынужденного убоя больного скота без уведомления ветеринарной службы, тогда как владельцы были обязаны сообщить в течение суток любым доступным способом о случае заболевания или гибели животного ветеринарному специалисту, который на месте по результатам осмотра определяет порядок дальнейших действий.

Также не выполнены требования пп. 1098–1102 СанПиН 3.3686-21 о вакцинации против СЯ в плановом порядке лиц, по роду деятельности подвергающихся риску профессионального заражения, ставшие причиной заболевания работников животноводческих хозяйств в Рязанской области, Богучарском и Новоусманском районах Воронежской области.

Грубым нарушением, наказуемым в соответствии со ст. 236 (часть 1) Уголовного кодекса РФ, стала реализация владельцами сельскохозяйственных животных заведомо заражённого мяса от подвергнутых вынужденному убою больных животных и павшего скота, в результате контакта с которым заболели люди в Республике Тыва и Богучарском районе Воронежской области. Также установлен факт разрешения ветеринаром одного из рынков г. Воронежа продажи опасной продукции, принятой без ветеринарных сопроводительных документов от перекупщиков заражённого мяса из очага Панинского района Воронежской области.

В итоге описанные нарушения, в первую очередь владельцев личных подсобных хозяйств и КФХ, изначально приведшие к неохваченности скота плановой вакцинацией, послужили причиной формирования эпизоотолого-эпидемиологического неблагополучия по СЯ, для эпидемиологических расследований и реализации комплекса противоэпидемических мероприятий потребовавших значительных трудозатрат специалистов органов и учреждений Роспотребнадзора, Россельхознадзора, Минздрава России, а также территориальных структур МВД России и ФСБ России, оказавших существенное содействие в расследовании вспышек, и крупных расходов бюджетных средств.

⁴ Закон Российской Федерации от 14.05.1993 № 4979-1 «О ветеринарии» (ред. от 25.12.2023).

⁵ Федеральный закон от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (ред. от 24.07.2023).

⁶ Федеральный закон от 27.12.2018 № 498-ФЗ «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации»; Санитарные правила и нормы СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 4); Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, лечебных, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов сибирской язвы (утв. приказом Минсельхоза России от 23.09.2021 № 648); Ветеринарные правила убоя животных (приложение № 1 к приказу Минсельхоза России от 28.04.2022 № 269, с изм. на 18.11.2022); Правила осуществления учёта животных (утв. постановлением Правительства РФ от 05.04.2023 № 550).

Стабилизация обстановки по СЯ состоит в постоянной полной реализации основных регламентированных профилактических мер противодействия. Поскольку определение локализации старых СЯЗ, служащих перманентным фактором риска осложнения ситуации, не представляется возможным, то первоочередным является обеспечение биологической безопасности известных захоронений (благоустройство, ветеринарно-санитарный контроль состояния, недопущение использования территорий захоронений для хозяйственных нужд, установление санитарно-защитных зон СЯЗ) и недопущение снятия с учёта СЯЗ. С целью предотвращения формирования новых почвенных очагов инфекции при захоронении останков скота, полученных в результате сжигания с применением подручных средств, которое не всегда позволяет добиться гарантированного уничтожения возбудителя, целесообразно приобретение передвижных инсинераторов, обеспечивающих сжигание туш животных до безопасного неорганического зольного остатка.

Основой профилактики СЯ у животных является обеспечение их поголового охвата специфической иммунизацией на угрожаемых территориях, которое может быть осуществлено только при условии принятия дополнительных мер по полному учёту скота. Необходим строгий контроль объёмов плановой вакцинации лиц высокого профессионального риска заражения. К важным аспектам профилактики относятся проведение разъяснительной работы с населением о факторах риска заражения и опасности СЯ, о недопустимости сокрытия фактического числа сельскохозяйственных животных в хозяйстве, влекущего невключение в план вакцинации неучтённого скота, проведения вынужденного убоя больных животных без осмотра ветеринарными специалистами, реализации полученного сырья и продуктов животноводства, приобретения мясной продукции в местах несанкционированной торговли. Совершенствованию надзора за СЯ, повышению эффективности проведения эпидемиологического расследования способствует использование алгоритма генетического анализа изолированных штаммов, позволяющего выявить модификации структуры генома и установить вероятное происхождение изолятов.

Неотъемлемой составляющей современной эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями является молекулярно-генетический мониторинг как часть микробиологического мониторинга за возбудителями инфекций. При расследовании вспышек СЯ в 2023 г. использован алгоритм wg-SNP-типирования штаммов *B. anthracis*, разработанный с использованием полученных в процессе исследований Референс-центра данных о генетической структуре популяций возбудителя СЯ. Алгоритм предназначен для решения оперативных задач и позволяет:

- выявить атипичные, модифицированные, новые формы возбудителя при сравнительном анализе структуры генома;
- повысить достоверность определения происхождения и возможных путей распространения штаммов.

Данный подход был использован нами ранее при эпидемиологическом расследовании вспышек СЯ, сопровождавшихся формированием эпидемиологических очагов, в процессе которых были изолированы культуры возбудителя СЯ в Ямало-Ненецком автономном округе (2016 г.), Ставропольском крае (2019 г.), Республике Тыва (2018, 2021 гг.), Республике Дагестан (2019, 2020, 2022 гг.) [25–28].

С применением данных геномного эпидемиологического надзора было установлено, что штаммы, ставшие причиной вышеуказанных вспышек СЯ, имели местное происхождение. Анализ целевых областей генома штаммов, в первую очередь генов факторов патогенности, показал типичную для вида *B. anthracis* структуру.

Заключение

Анализ ситуации по СЯ в России в 2023 г. свидетельствует о том, что причиной формирования эпизоотических очагов стал контакт неучтённых и, соответственно, непривитых от данной инфекции животных, вакцинированного скота с недостаточно напряжённым уровнем специфического иммунитета, с почвой старых безнадзорных СЯЗ, а также, вероятно, с кормами, заготовленными на территории почвенных очагов. Ряд нарушений ветеринарного и санитарно-эпидемиологического нормирования, приведших к контакту с больными животными при уходе, вынужденном убое, разделке и транспортировке туш, подготовке и кулинарной обработке заражённых мяса и субпродуктов, употреблении в пищу ливера недостаточной термической-обработки, обусловил заболевание людей: как непривитых против СЯ работников ферм, так и лиц, не относящихся к контингенту риска профессионального заражения.

Комплекс противоэпидемических мероприятий в процессе вспышек СЯ, осуществлённый в формате межведомственного взаимодействия, позволил своевременно локализовать и ликвидировать очаги инфекции и избежать ещё больших эпидемических осложнений.

Результаты молекулярно-генетического типирования штаммов *B. anthracis*, выделенных в ходе эпидемиологического расследования 7 вспышек СЯ на территории России в 2023 г., позволяют сделать вывод об их местном происхождении и типичной для вида структуре генома. Генетический анализ изолированных штаммов показал эффективность применения разработанной системы wgSNP-типирования при эпидемиологическом расследовании вспышек.

Результаты расследования причин осложнения обстановки по СЯ в России в 2023 г. свидетельствуют о том, что неполноценное выполнение регламентированного комплекса профилактических мер может реально привести к ситуации, которая станет новой главой «старой сказки» о СЯ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. WHO. *Anthrax in Humans and Animals*. Geneva;2008.
2. Carlson C.J., Kracalik I.T., Ross N. et al. The global distribution of *Bacillus anthracis* and associated anthrax risk to humans, livestock and wildlife. *Nat. Microbiol.* 2019;4(8):1337–43. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0435-4>
3. Черкасский Б.Л., ред. *Кадастр стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов Российской Федерации: справочник*. М.;2005. Cherkasskii B.L., ed. *Cadastr of Permanently Disadvantaged Anthrax Settlements of the Russian Federation: Handbook*. Moscow;2005.
4. Черкасский Б.Л. *Эпидемиология и профилактика сибирской язвы*. М.;2002. Cherkasskii B.L. *Epidemiology and Prevention of Anthrax*. Moscow;2002.
5. Онищенко Г.Г., Васильев Н.Т., Литусов Н.В. и др. *Сибирская язва: актуальные аспекты микробиологии, эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики*. М.;1999. Onishchenko G.G., Vasil'ev N.T., Litusov N.V., et al. *Anthrax: Actual Aspects of Microbiology, Epidemiology, Clinic, Diagnosis, Treatment and Prevention*. Moscow;1999.
6. Рязанова А.Г., Ежлова Е.Б., Пакскина Н.Д. и др. Ситуация по сибирской язве в 2018 г., прогноз на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019;(1):98–102. Ryazanova A.G., Ezhlova E.B., Pakskina N.D., et al. Epidemiological situation on anthrax in 2018, the forecast for 2019. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2019;(1):98–102. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-1-98-102> EDN: <https://elibrary.ru/sfnwswd>
7. Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К. и др. Обзор эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве в 2020 г. в мире и прогноз на 2021 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021;(1):81–6. Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., et al. Review of the epizootiological and epidemiological situation on anthrax around the world in 2020 and the forecast for 2021 in the Russian Federation. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021;(1):81–6. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-1-81-86> EDN: <https://elibrary.ru/kilyjc>
8. Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К. и др. Анализ ситуации по сибирской язве в 2022 г. в мире, прогноз на 2023 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023;(2):88–94. Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., et al. Analysis of the situation on anthrax in the world in 2022, the forecast for the Russian Federation for 2023. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2023;(2):88–94. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-2-88-94> EDN: <https://elibrary.ru/ijvupy>
9. Демина Ю.В., Нечепуренко Л.А., Познахарева С.А. и др. Организация противоэпидемических мероприятий во время вспышки сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017;(1):49–53. Demina Yu.V., Nechepurenko L.A., Poznakhareva S.A., et al. Organization of anti-epidemic measures during the anthrax outbreak in the Yamalo-Nenets autonomous district in 2016. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2017;(1):49–53. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-1-49-53> EDN: <https://elibrary.ru/yixymx>
10. Pisarenko S.V., Eremenko E.I., Ryazanova A.G. et al. Genotyping and phylogenetic location of one clinical isolate of *Bacillus anthracis* isolated from a human in Russia. *BMC Microbiol.* 2019;19(1):165. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1542-3>
11. Hai Y., Wang W.R., Hua Y., et al. Changed epidemiology of anthrax and molecular characteristics of *Bacillus anthracis* in Inner Mongolia Autonomous Region, China. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021;68(4):2250–60. DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.13877>
12. Еременко Е.И., Печковский Г.А., Рязанова А.Г. и др. Анализ *in silico* геномов штаммов *Bacillus anthracis* главных генетических линий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(3):155–65. Eremenko E.I., Pechkovskii G.A., Ryazanova A.G., et al. In silico analysis of genomes of bacillus anthracis strains belonging to major genetic lineages. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2023;100(3):155–65. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-385> EDN: <https://elibrary.ru/ocpnux>
13. Wang S., Suluku R., Jalloh M.B., et al. Molecular characterization of an outbreak-involved *Bacillus anthracis* strain confirms the spillover of anthrax from West Africa. *Infect. Dis. Poverty*. 2024;13(1):6. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40249-023-01172-2>
14. Перечень скотомогильников (в том числе сибирезвенных), расположенных на территории Российской Федерации (Центральный, Дальневосточный Федеральные округа): информационное издание. Часть 2. М.;2012. List of animal burial grounds (including anthrax) located on the territory of the Russian Federation (Central, Far Eastern Federal Districts): information publication. Part 2. Moscow;2012.
15. Перечень скотомогильников (в том числе сибирезвенных), расположенных на территории Российской Федерации (Сибирский федеральный округ): информационное издание. Часть 4. М.;2012. List of animal burial grounds (including anthrax) located on the territory of the Russian Federation (Siberian Federal District): information publication. Part 4. Moscow;2012.
16. Перечень скотомогильников (в том числе сибирезвенных), расположенных на территории Российской Федерации (Приволжский федеральный округ): информационное издание. Часть 5. М.;2013. List of animal burial grounds (including anthrax) located on the territory of the Russian Federation (Volga Federal District): information publication. Part 5. Moscow;2013.
17. Treangen T.J., Ondov B.D., Koren S., Phillippy A.M. The harvest suite for rapid core-genome alignment and visualization of thousands of intraspecific microbial genomes. *Genome Biol.* 2014;15(11):524. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0524-x>
18. Tamura K., Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 1993;10(3):512–26. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
19. Черкасский Б.Л. Закономерности территориального распространения и проявления активности стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 1999;(2):48–52. Cherkasskii B.L. Patterns of territorial distribution and manifestation of activity of permanently unfavorable sites for anthrax. *Epidemiology and Infectious Diseases*. EDN: <https://elibrary.ru/pftkzf>
20. Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К. и др. Эпидемиологическая и эпизоотологическая обстановка по сибирской язве в мире в 2021 г., прогноз на 2022 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022;(1):64–70. Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., et al. Epidemiological and epizootiological situation on anthrax around the world in 2021, the forecast for 2022 in

- the Russian Federation. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2022;(1):64–70.
DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2022-1-64-70>
EDN: <https://elibrary.ru/rfjgeu>
21. Макаров В.В., Брико Н.И. Мировой нозоареал сибирской язвы. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2011;(2):13. Makarov V.V., Briko N.I. The worldwide nosoarea of anthrax. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2011;(2):13.
EDN: <https://elibrary.ru/okekjh>
 22. Онищенко Г.Г., Дармов И.В., Борисевич С.В., ред. *Сибирская язва: актуальные проблемы разработки и внедрения медицинских средств защиты*. Сергиев Посад; 2018. Onishchenko G.G., Darmov I.V., Borisevich S.V., eds. *Anthrax: Actual Problems of Elaboration and Introduction in Practice of Medical Defense Means*. Sergiev Posad; 2018.
EDN: <https://elibrary.ru/mgixfj>
 23. Brownlie T., Bishop T., Parry M., et al. Predicting the periodic risk of anthrax in livestock in Victoria, Australia, using meteorological data. *Int. J. Biometeorol.* 2020;64(4):601–10.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00484-019-01849-0>
 24. Pisarenko S.V., Eremenko E.I., Ryazanova A.G., et al. Phylogenetic analysis of *Bacillus anthracis* strains from Western Siberia reveals a new genetic cluster in the global population of the species. *BMC Genomics*. 2019;20(1):692.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6060-z>
 25. Pisarenko S.V., Eremenko E.I., Kovalev D.A., et al. Molecular genotyping of 15 *B. anthracis* strains isolated in eastern Siberia and Far East. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2021;159:107116.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107116>
 26. Eremenko E.I., Pechkovskii G.A., Pisarenko S.V., et al. Phylogenetics of *Bacillus anthracis* isolates from Russia and bordering countries. *Infect. Genet. Evol.* 2021;92:104890.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104890>
 27. Бобрышева О.В., Писаренко С.В., Ковалев Д.А. и др. Филогенетический анализ штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных в Республике Дагестан. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2023;18(1):29–32. Bobrysheva O.V., Pisarenko S.V., Kovalev D.A., et al. Phylogenetic analysis of bacillus anthracis strains isolated in the Republic of Dagestan. *Medical News of North Caucasus*. 2023;18(1):29–32.
DOI: <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18007>

Информация об авторах

Куличенко Александр Николаевич[✉] — д.м.н., проф., академик РАН, директор Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, stavnipchi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Рязанова Алла Геннадьевна — к.м.н., врач-бактериолог, зав. лаб. сибирской язвы, Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>

Логвин Федор Васильевич — к.м.н., доцент, зав. каф. эпидемиологии Ростовского государственного медицинского университета, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4410-1677>

Еременко Евгений Иванович — д.м.н., профессор, г.н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1117-1185>

Аксенова Людмила Юрьевна — к.м.н., с.н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7744-3112>

Писаренко Сергей Владимирович — к.х.н., в.н.с. лаб. биохимии Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6458-6790>

Семенова Ольга Викторовна — к.б.н., н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>

Герасименко Диана Константиновна — м.н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8636-6585>

Ковалев Дмитрий Анатольевич — к.х.н., зав. лаб. биохимии Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>

Головинская Татьяна Михайловна — к.б.н., биолог лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6475-4512>

Бобрышева Ольга Викторовна — м.н.с. лаб. биохимии Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6338-4476>

Печковский Григорий Александрович — м.н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7033-9972>

Олейникова Ксения Анатольевна — м.н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0009-0001-3479-9434>

Никитина Анна Владимировна — м.н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0009-0006-4544-7860>

Участие авторов: Куличенко А.Н. — концепция исследования, анализ данных, редактирование статьи; Рязанова А.Г. — кон-

Information about the authors

Alexandr N. Kulichenko[✉] — D. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Director, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, stavnipchi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Alla G. Ryazanova — Cand. Sci. (Med.), Head, Anthrax laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>

Fedor V. Logvin — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of epidemiology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4410-1677>

Evgeny I. Eremenko — D. Sci. (Med.), Professor, principal researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8163-1300>

Lyudmila Yu. Aksenova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7744-3112>

Sergey V. Pisarenko — Cand. Sci. (Chem.), leading researcher, Laboratory of biochemistry, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6458-6790>

Olga V. Semenova — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>

Diana K. Gerasimenko — junior researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8636-6585>

Dmitry A. Kovalev — Cand. Sci. (Chem.), Head, Laboratory of biochemistry, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>

Tatyana M. Golovinskaya — Cand. Sci. (Biol.), biologist, Anthrax laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6475-4512>

Olga V. Bobrysheva — junior researcher, Laboratory of biochemistry, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6338-4476>

Grigori A. Pechkovskii — junior researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7033-9972>

Kseniya A. Oleynikova — junior researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0009-0001-3479-9434>

Anna V. Nikitina — junior researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0009-0006-4544-7860>

Author contribution: Kulichenko A.N. — research concept, data analysis, article editing; Ryazanova A.G. — research concept, writing the text; Logvin F.V. — data analysis, writing the text; Eremenko E.I. —

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

цепция исследования, написание текста; *Логвин Ф.В.* — анализ данных, написание текста; *Еременко Е.И.* — филогенетический анализ; *Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Герасименко Д.К., Головинская Т.М., Бобрышева О.В., Печковский Г.А., Олейникова К.А., Никитина А.В.* — лабораторные исследования; *Писаренко С.В.* — геномные исследования, филогенетический анализ; *Ковалев Д.А.* — геномные исследования, редактирование статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 12.04.2024;
принята к публикации 20.06.2024;
опубликована 29.08.2024

phylogenetic analysis; *Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Gerashimchenko D.K., Golovinskaya T.M., Bobrysheva O.V., Pechkovskii G.A., Oleynikova K.A., Nikitina A.V.* — laboratory research; *Pisarenko S.V.* — genomic research, phylogenetic analysis; *Kovalev D.A.* — genomic research, article editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the article, acquisition, analysis, interpretation of data for the article, drafting and revising the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 12.04.2024;
accepted for publication 20.06.2024;
published 29.08.2024

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-518>



Молекулярно-генетическая характеристика уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных при бессимптомной бактериурии у беременных

Хуснутдинова Т.А.[✉], Будиловская О.В., Крысанова А.А., Шалепо К.В.,
Синякова А.А., Савичева А.М., Коган И.Ю.

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта,
Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Введение. Уропатогенные *Escherichia coli* (УРЕС) являются доминирующими бактериальными патогенами при инфекциях мочевыводящих путей (ИМП). УРЕС относятся к разным филогенетическим группам и обладают множеством факторов вирулентности, изучение которых в совокупности с оценкой их связи с клиническими формами ИМП необходимо для лучшего понимания патогенеза и разработки новых диагностических алгоритмов.

Цель исследования — молекулярно-генетическая характеристика УРЕС, выделенных при бессимптомной бактериурии у беременных.

Материалы и методы. В исследование включены клинические изоляты *E. coli* ($n = 70$), выделенные у беременных с бессимптомной бактериурией (ББУ). Методом полимеразной цепной реакции определяли принадлежность к филогенетическим группам и 15 маркеров вирулентности — гены, ассоциированные с адгезией (*fimH*, *papC*, *sfa*, *afa*, *focG*), инвазией (*ibeA*), синтезом токсинов (*cnf1*, *hlyA*, *sat*, *vat*, *usp*), сидерофоров (*fyuA*, *iroN*, *iuc*), капсульного антигена (*kpsMIII*). Для оценки статистической значимости различий средних величин применяли точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при 95% доверительном интервале ($p < 0,05$).

Результаты. Большинство изолятов УРЕС, выделенных при ББУ, принадлежали к филогруппе B2 (51,4%) и характеризовались детекцией всех ассоциированных с УРЕС факторов вирулентности, включённых в настоящее исследование; достоверно чаще были обнаружены гены, ассоциированные с адгезией (*sfa*, *focG*), синтезом токсинов (*hlyA*, *cnf1*, *vat*, *usp*) и капсул (*kps*), сидерофоры (*fyuA*, *iroN*, *hlyA*). Две и более детерминанты вирулентности выявлены у 93% изолятов.

Заключение. Определение ключевых детерминант вирулентности и/или комбинации генов вирулентности может быть прогностическим маркером для прогнозирования течения ИМП, особенно у беременных, и позволит расширить возможности диагностики с учётом вирулентных свойств уропатогена.

Ключевые слова: инфекция мочевыводящих путей, бессимптомная бактериурия, уропатогенные *Escherichia coli*, филогенетическая характеристика, факторы вирулентности

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов, протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта (протокол № 114 от 14.12.2021).

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках фундаментального научного исследования FGWN-2022-0004 «Оптимизация методов предикции, профилактики и лечения «больших акушерских синдромов, а также стратегии родоразрешения у беременных из групп высокого риска, с целью улучшения акушерских и перинатальных исходов».

Конфликт интересов. Спонсор не играл никакой роли в разработке исследования, сборе и анализе данных, принятии решения о публикации или подготовке рукописи.

Для цитирования: Хуснутдинова Т.А., Будиловская О.В., Крысанова А.А., Шалепо К.В., Синякова А.А., Савичева А.М., Коган И.Ю. Молекулярно-генетическая характеристика уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных при бессимптомной бактериурии у беременных. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):462–469.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-518>

EDN: <https://www.elibrary.ru/hzattf>

The molecular-genetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria

Tatiana A. Khusnutdinova[✉], Olga V. Budilovskaya, Anna A. Krysanova, Kira V. Shalepo, Anna A. Sinyakova, Alevtina M. Savicheva, Igor Yu. Kogan

D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia

Abstract

Introduction. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) are the dominant bacterial pathogens of urinary tract infections (UTIs). UPEC belong to different phylogenetic groups and have many virulence factors, the study of which, in conjunction with the assessment of their relationship with clinical forms of UTI, is necessary for a better understanding of the pathogenesis of UTI and the development of new diagnostic algorithms.

Aim: determination of the molecular genetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria.

Materials and methods. Clinical isolates of uropathogenic *E. coli* ($n = 70$) from pregnant women with asymptomatic bacteriuria were included in the study. The PCR method was used to determine the belonging to phylogenetic groups and detect 15 virulence markers — genes associated with adhesion (*fimH*, *papC*, *sfa*, *afa*, *focG*); toxin synthesis (*cnf 1*, *hlyA*, *sat*, *vat*, *usp*); siderophores (*fyuA*, *iroN*, *iuc*); capsular antigen (*kpsMIII*). To assess the statistical significance of differences, Fisher's exact test was used. Differences were considered statistically significant at a confidence interval of 95% ($p < 0.05$).

Results. Most of the UPEC isolates belonged to phylogroup B2 (51,4%) and were characterized by the detection of all UPEC-associated virulence factors included in this study; genes associated with adhesion (*sfa*, *focG*), invasins (*ibeA*), synthesis of toxins (*hlyA*, *cnf1*, *vat*, *usp*) and capsule (*kpsMIII*), siderophores (*fyuA*, *iroN*, *hlyA*) were detected significantly more frequently ($p < 0.05$). Two or more virulence determinants were detected in 93% of isolates.

Conclusion. The identification of key determinants of virulence and/or a combination of virulence genes can be a prognostic marker for predicting the course of UTI, especially in pregnant women, and will expand diagnostic capabilities taking into account the virulent properties of the uropathogen.

Keywords: urinary tract infections, asymptomatic bacteriuria, uropathogenic *Escherichia coli*, phylogenetic characteristics, virulence factors

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The study was approved by the Ethical Committee at the D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynaecology and Reproductology (protocol No. 114, December 14, 2021)

Funding source. The work was carried out as part of the fundamental scientific research FGWN-2022-0004 "Optimization of methods for prediction, prevention and treatment of "major obstetric syndromes, as well as delivery strategies in high-risk pregnant women, in order to improve obstetric and perinatal outcomes".

Conflict of interest. The funder had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

For citation: Khusnutdinova T.A., Budilovskaya O.V., Krysanova A.A., Shalepo K.V., Sinyakova A., Savicheva A.M., Kogan I.Yu. The molecular-genetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(4):462–469.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-518>

EDN: <https://www.elibrary.ru/hzattf>

Введение

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются одними из самых распространённых инфекционных заболеваний. Ежегодно в мире на их долю приходится до 150 млн случаев. По данным разных авторов, до 50–60% женщин хотя бы один раз в жизни сталкиваются с эпизодом ИМП [1, 2]. Клинические симптомы, связанные с ИМП, могут варьировать по степени тяжести в зависимости как от вирулентных свойств возбудителя, так

и от восприимчивости организма к инфекции: от бессимптомного течения (бессимптомная бактериурия — ББУ) до клинически выраженного цистита, пиелонефрита, вплоть до тяжёлого уросепсиса¹. ББУ представляет собой бактериальную колонизацию мочевыводящих путей (МВП) при отсутствии

¹ European Association of Urology. Guidelines on urological infection; 2018. URL: <https://uroweb.org/guidelines/urological-infections/chapter/the-guideline>

клинических проявлений заболевания. Во время беременности ББУ на протяжении многих лет рассматривается как фактор риска развития пиелонефрита и неблагоприятных исходов беременности (преждевременные роды, рождение детей с низкой массой тела и др.) [3, 4]. Назначение антибактериальных препаратов для лечения ББУ во время беременности может сопровождаться нежелательными эффектами: изменением состава кишечного микробиома беременной, что впоследствии определяет и состав микробиоты новорождённого; нарушением развития иммунной системы ребёнка [5, 6]. Кроме того, антибактериальная терапия может приводить к элиминации потенциально протективных штаммов микроорганизмов, которые предотвращают колонизацию вирулентными уропатогенами, тем самым косвенно способствуя развитию симптоматических ИМП.

Среди возбудителей ИМП доминирующим бактериальным патогеном является *Escherichia coli* — грамотрицательная, подвижная, факультативно анаэробная палочка, относящаяся к порядку *Enterobacteriaceae*. *E. coli* является частью комменсальной микробной популяции кишечника человека и поддерживает стабильность и гомеостаз просветной микробиоты кишечника за счёт симбиотического взаимодействия с организмом человека. Штаммы *E. coli*, обладающие определёнными факторами вирулентности, способны адаптироваться к новым нишам и вызывать широкий спектр заболеваний кишечной и внекишечной локализации.

E. coli, ассоциированные с ИМП, известны как уропатогенные/uropathogenic *E. coli* (UPEC) [7]. UPEC обладают множеством как структурных, так и секретируемых факторов вирулентности, необходимых для реализации их патогенного потенциала в МВП. Экспрессия адгезивных органелл, таких как пили 1-го типа, P- и S-фимбрии, позволяет UPEC связываться с рецепторами на поверхности эпителиальных клеток МВП, колонизировать уроэпителий и проникать в клетки и ткани, а также активирует врождённый иммунный ответ. Кроме того, S-фимбриальные адгезины могут экспрессироваться сепсис- и менингит-ассоциированными (neonatal meningitis-associated *E. coli* — NMES) *E. coli*. В патогенезе неонатального менингита также существенную роль играют инвазины, которые встречаются преимущественно у штаммов NMES. Важным патогенным фактором являются токсины (гемолизин, цитотоксический некротизирующий фактор, вакуолизирующий аутотранспортный токсин, секретируемый аутотранспортный токсин), повреждающие клетки и нарушающие их метаболизм. Продукция сидерофоров (железопереносящих белков) определяет способность *E. coli* к захвату железа, что повышает жизнеспособность в МВП. Тяжесть симптоматических проявлений ИМП свя-

зана с приобретением и экспрессией генов вирулентности. При бессимптомной колонизации МВП UPEC не способны экспрессировать ключевые факторы вирулентности, что, вероятно, является механизмом адаптации к длительной персистенции мочевого пузыря [8].

На основании молекулярного анализа штаммы *E. coli* делят на филогенетические группы: A, B1, B2, C, D, E, F и G [9]. UPEC чаще всего относятся к филогруппам B2, D и в меньшей степени к группам E и F, тогда как комменсальные штаммы, считающиеся менее вирулентными, принадлежат преимущественно к филогруппам A или B1 [10].

По результатам многочисленных исследований показана связь между наличием генов вирулентности и филогруппами UPEC [11–13]. Однако количество исследований, направленных на изучение молекулярной характеристики и оценки генотипического разнообразия штаммов UPEC, выделенных при разных проявлениях ИМП (особенно при ББУ), ограничено. Генетические детерминанты вирулентности как критерий оценки и прогноза течения инфекционного процесса в настоящее время не используют. Таким образом, актуальным направлением молекулярно-генетических исследований является изучение патогенного потенциала изолятов UPEC, выделенных при ББУ у беременных женщин, для определения их клинической значимости, а также определение молекулярных основ патогенеза, разработка новых диагностических алгоритмов и эффективных методов лечения.

Целью исследования являлась молекулярно-генетическая характеристика UPEC, выделенных при ББУ у беременных.

Материалы и методы

Клинические изоляты *E. coli* ($n = 70$) выделены из мочи беременных женщин с ББУ, которые наблюдались акушером-гинекологом в НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта в 2018–2023 гг.

Исследование проводили при добровольном информированном согласии пациенток, протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта (протокол № 114 от 14.12.2021).

Диагноз ББУ был установлен при выделении одного и того же микроорганизма в количестве $\geq 10^5$ КОЕ/мл в 2 последовательных пробах мочи, взятых с интервалом не менее 24 ч, при отсутствии клинических проявлений ИМП. При выделении более 1 микроорганизма проба исключалась из исследования. Бактериологическое исследование клинического материала проводили с использованием хромогенной питательной среды для выделения возбудителей ИМП (Brilliance UTI Clarity Agar, «Oxoid»). Результаты идентификации подтверждали методом

масс-спектрометрии («MALDI-TOF MS», «Bruker Daltonics»). Хранение культур осуществляли в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30% глицерина при -70°C .

Экстракцию ДНК проводили с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб АМ» (ЦНИИ Эпидемиологии).

Принадлежность штаммов *E. coli* к филогенетическим группам определяли с помощью quadruplex-полимеразной цепной реакции (ПЦР) согласно O. Clermont и соавт. [9].

Все изоляты были протестированы на 15 маркеров вирулентности: гены, ассоциированные с адгезией (*fimH*, *papC*, *sfa*, *afa*, *focG*); инвазией (*ibeA*), синтезом токсинов (*cnf1*, *hlyA*, *sat*, *vat*, *usp*), сидерофоров (*fyuA*, *iroN*, *iuc*), капсульного антигена (*kpsMIII*). Использовали ранее исследованные праймеры, синтез ПЦР-праймеров выполнен ООО «Синтол» [14–20]. Для ПЦР-амплификации использовали набор реагентов «Tersus plus PCR kit» («Евроген») и термоциклер «Терцик» («ДНК-Технология»). Разделение полученных ампликонов проводили в 2% агарозном геле. Визуализацию и документирование данных осуществляли с использованием гель-документирующей системы «Infinity» («Vilber Lourmat»).

Для оценки статистической значимости различий средних величин применяли точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при доверительном интервале (ДИ) 95% ($p < 0,05$).

Результаты

Филогенетический анализ *E. coli*, выделенных при ББУ у беременных, показал, что достоверно чаще ($p < 0,05$) преобладали клинические изоляты, принадлежащие к филогруппе B2 (51,4%); остальные изоляты относились к филогруппам D, A, B1 и F (табл. 1).

Анализ факторов вирулентности, связанных с адгезией, показал, что ген *fimH* был выявлен у 97,1% изученных штаммов; *papC* — у 34,3%; *sfa* — у 27,1%; *focG* — у 11,4%; *afa* — у 2,9%. Ответственный за инвазию эндотелиальных клеток ген *ibeA* не был обнаружен среди УРЕС, выделенных при ББУ у беременных. Наиболее распространенным геном, кодирующим синтез токсинов, был *vat* (42,9%); гены *hlyA*, *cnf1* и *sat* выявлены у 21,4, 22,9 и 32,9%

изолятов соответственно. Уропатоген-специфичный белок *usp* был обнаружен у 57,1% изолятов. Среди генов, связанных с продукцией сидерофоров, ген *fyuA* был выявлен у 78,6% изолятов, *iroN* — у 48,6%, *iuc* — у 37,1%. Ген, кодирующий синтез капсульного антигена (*kpsMIII*), обнаружен у 65,7% изученных штаммов *E. coli*.

В клинических изолятах УРЕС присутствовали от 1 до 12 генов вирулентности. Ни один из 70 штаммов *E. coli* не содержал все 15 маркеров вирулентности, включённых в исследование. Филогенетическая группа A достоверно чаще была представлена изолятами с 1 (75%) геном вирулентности; остальные штаммы без статистически значимых различий характеризовались сочетанием 2 (12,5%) и 5 (12,5%) генов. Изоляты, принадлежащие к филогенетической группе B1, без статистически значимых различий имели в своём геноме сочетание 2 (33,3%) и 4 (50%) маркеров вирулентности; в геноме 1 (16,7%) штамма выявлен 1 ген вирулентности. Филогенетическая группа B2 характеризовалась наибольшим количеством генов в различных комбинациях (от 5 до 12); достоверно чаще встречались изоляты, содержащие в своём геноме комбинации из 7 (11,1%), 8 (25%), 9 (13,9%), 10 (25%) и 12 (2,8%) генов. Филогенетические группы D и F были представлены изолятами, в которых гены, кодирующие факторы вирулентности, присутствовали без значимых различий в сочетании от 2 до 8 и от 3 до 8 соответственно.

В зависимости от наличия факторов патогенности УРЕС все изоляты были разделены на 6 кластеров (табл. 2).

В геномах 7 изолятов были выявлены генетические детерминанты, кодирующие 1 фактор патогенности (7%; 95% ДИ 4,1–19,5). Частота встречаемости изолятов, содержащих комбинации 4 факторов (62,9%; 95% ДИ 50,0–74,1), статистически достоверно ($p < 0,0001$) отличалась от изолятов, характеризующихся присутствием сочетаний генов, кодирующих 2 и 3 фактора патогенности.

Наибольшее количество генов вирулентности было обнаружено у штаммов, принадлежащих филогруппе B2; в филогруппе D не детектировались гены *focG*, *afa*, *cnf1* и *ibeA*; в филогруппе F обнаружено 8 генов вирулентности, за исключением *afa*, *sfa*, *focG*, *cnf1*, *hlyA*, *vat* и *ibeA* (табл. 3). В филогруппах A и B1 было выявлено наименьшее

Таблица 1. Принадлежность к филогенетическим группам изолятов *E. coli*, выделенных при ББУ у беременных
Table 1. Belonging to phylogenetic groups of *E. coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria

Показатель Indicator	Филогенетическая группа Phylogroup				
	A	B1	B2	D	F
Абсолютное количество Number of isolates	8	6	36	14	6
%	11,4	8,6	51,4	20,0	8,6
95% ДИ 95% CI	5,1–21,3	3,2–17,7	39,2–63,6	11,4–31,3	3,2–17,7

Таблица 2. Частота обнаружения факторов патогенности в изолятах UPEC, выделенных при ББУ у беременных
Table 2. Frequency of detection of pathogenicity factors in uropathogenic *E. coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria

Фактор патогенности Pathogenicity factor	<i>n</i>	%	95% ДИ 95% CI
Адгезия Adhesion	7	10	4,1–19,5
Адгезия + сидерофоры Adhesion + siderophores	11	15,7	8,1–26,4
Адгезия + токсины Adhesion + toxins	1	1,4	0,04–7,7
Сидерофоры + капсула Siderophores + capsules	1	1,4	0,04–7,7
Адгезия + сидерофоры + капсулы Adhesion + siderophores + capsules	2	2,9	0,03–12,6
Адгезия + сидерофоры + токсины Adhesion + siderophores + toxins	4	5,7	1,8–14,2
Адгезия + сидерофоры + токсины + капсула Adhesion + siderophores + toxins + capsules	44	62,9	50,5–74,1

разнообразие генов. Статистически значимо чаще ($p < 0,05$) гены вирулентности, ассоциированные с адгезией (*sfa*, *focG*), кодирующие синтез токсинов (*hlyA*, *cnf1*, *vat*, *usp*), сидерофоров (*fyuA*, *iroN*, *hlyA*) и капсул (*kps*), присутствовали в изолятах филогенетической группы В2, по сравнению с изолятами других филогенетических групп. Статистически достоверные различия выявлены в частоте встречаемости гена *kps* ($p < 0,01$) у изолятов UPEC, принадлежащих к филогенетической группе А; генов *vat* ($p < 0,05$) и *usp* ($p < 0,001$), принадлежащих к филогенетической группе D.

Обсуждение

Исследования молекулярно-генетической характеристики уропатогенных *E. coli*, результаты которых в настоящее время доступны для анализа, основывались на оценке патогенного потенциала штаммов, выделенных при ИМП. Учитывая значимое влияние бессимптомной бактериурии на развитие осложнений беременности, мы провели исследование, направленное на изучение штаммов *E. coli*, выделенных у пациенток с данной патологией.

Клинические изоляты *E. coli*, выделенные при ББУ у беременных, принадлежали к 5 филогенети-

Таблица 3. Встречаемость генов вирулентности в разных филогенетических группах клинических изолятов *E. coli*, выделенных при ББУ у беременных

Table 3. Occurrence of virulence genes in *E. coli* of various phylogenetic groups isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria

Фактор вирулентности Virulence factors	Ген Gen	Частота встречаемости генов, <i>n</i> (%) Frequency of gene occurrence, <i>n</i> (%)				
		A (<i>n</i> = 8)	B1 (<i>n</i> = 6)	B2 (<i>n</i> = 36)	D (<i>n</i> = 14)	F (<i>n</i> = 6)
Адгезины Adhesins	<i>papC</i>	0	0	15 (41,7%)	5 (35,7%)	4 (66,7%)
	<i>afa</i>	0	0	2 (5,6%)	0	0
	<i>fimH</i>	8 (100,0%)	6 (10,0%)	36 (100,0%)	13 (92,8%)	6 (100,0%)
	<i>sfa</i>	0	0	18**** (50,0%)	1 (7,1%)	0
	<i>focG</i>	0	0	8*** (22,2%)	0	0
Инвазины Invasins	<i>ibeA</i>	0	0	0	0	0
	<i>fyuA</i>	2 (25,%)	4 (66,7%)	33*** (91,7%)	12 (85,7%)	4 (66,7%)
Сидерофоры Siderophore	<i>iroN</i>	0	4 (66,7%)	25**** (69,4%)	3 (21,4%)	2 (33,3%)
	<i>iuc</i>	1 (12,5%)	3 (50,0%)	14 (38,9%)	4 (28,5%)	4 (66,7%)
Токсины Toxins	<i>hlyA</i>	0	0	14**** (38,9%)	1 (7,1%)	0
	<i>cnf1</i>	0	0	16**** (44,4%)	0	0
	<i>sat</i>	1 (12,5%)	0	14 (38,9%)	7 (50,0%)	2 (33,3%)
	<i>vat</i>	0	0	30**** (83,3%)	2* (14,3%)	0
	<i>usp</i>	0	0	36**** (100,0%)	1**** (7,1%)	3 (50,0%)
Капсула Capsules	<i>kpsMII</i>	1** (12,5%)	0	32**** (88,9%)	9 (64,3%)	4 (66,7%)

Примечание. – частота встречаемости гена в группе или подгруппе меньше частоты встречаемости этого же гена в общей выборке; * — частота встречаемости гена в группе или подгруппе выше частоты встречаемости этого же гена в общей выборке. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Note. – the frequency of gene occurrence in the group is lower than the frequency of occurrence of the same gene in the overall sample; * — the frequency of gene occurrence in the group is higher than the frequency of occurrence of the same gene in the overall sample.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

ческим группам (A, B1, B2, D и F). Было показано, что доминирующими филогруппами были B2 и D (в меньшей степени) — 51,4 и 20% соответственно, что согласуется с результатами других исследований [10]. Согласно расширенной классификации O. Clermont (2013), филогруппа F является подгруппой филогруппы B2, а *E. coli*, принадлежащие к этой группе, также считаются уропатогенными. В нашем исследовании 8,6% изолятов, выделенных при ББУ, были отнесены к этой филогруппе. Также были обнаружены *E. coli*, принадлежащие к филогенетическим группам A (11,4%) и B1 (8,6%), которые ассоциируются с комменсальными изолятами; это позволяет предположить, что основным резервуаром *E. coli*, которые способны колонизировать мочевые пути, является кишечник.

Факторы адгезии играют ключевую роль в патогенезе ИМП, облегчая прикрепление *E. coli* к уроэпителию. В целом факторы адгезии в нашем исследовании были обнаружены изолированно или в различных сочетаниях у 69 (98,6%) изолятов, что подтверждает роль адгезинов как одного из основных факторов у вирулентности. Согласно многочисленным исследованиям, ген *fimH* является наиболее распространённым геном адгезии, кодирующим фимбрию 1-го типа, что было подтверждено и результатами нашего исследования — ген *fimH* был обнаружен у большинства изолятов (97,1%). Важное значение в патогенезе ИМП, особенно у беременных, играют факторы вирулентности, ассоциированные с развитием восходящей инфекции (пиелонефрита). Ген *rapC* (пиелонефрит-ассоциированные пили) и афимбриальные *afa*-адгезины (ассоциированы с развитием гестационного пиелонефрита) в нашем исследовании были обнаружены у 34,3 и 2,9% изолятов соответственно. Распространённость генов, кодирующих фимбриальные адгезины *sfa* и *focG*, которые экспрессируются штаммами, вызывающими менингит, сепсис и пиелонефрит, составила 34,7 и 12,9% соответственно. Результаты аналогичных исследований по изучению генетических детерминант вирулентности UPEC, выделенной при ББУ, свидетельствуют о более низкой распространённости генов *rapC* (от 12,9 до 20,6%), *sfa* (от 8,1 до 16,9%), но о большей частоте выявления генов *afa* (34,9%) и *focG* (35,1%) [19, 21, 22].

МВП могут быть источником NMES, который является одной из наиболее распространённых инфекций с высокой заболеваемостью и смертностью в неонатальном периоде [23]. Ген *ibeA*, являющийся одним из важных факторов вирулентности NMES и ответственный за инвазию эндотелиальных клеток, не был обнаружен среди изолятов *E. coli*, выделенных при ББУ у беременных.

Для UPEC характерно наличие уропатоген-специфичного белка — бактериоциноподобного токсина, ассоциированного с развитием пиело-

нефрита и бактериемии. Появление этого маркера вирулентности часто связано с увеличением вирулентности штамма и его выживаемости в МВП. Результаты нашего исследования показали более высокую частоту обнаружения гена *usp* (57,1%) по сравнению с результатами аналогичных исследований, где частота детекции гена *usp* у UPEC, выделенных при ББУ, составила 22,6–34,4% [19, 21].

Токсинообразование характерно для штаммов *E. coli*, ответственных за более тяжёлые формы заболевания (пиелонефрит, уросепсис). Гены *hlyA* и *cnf1*, ассоциированные с синтезом токсинов, были обнаружены у 68,2 и 63,6% изолятов, выделенных при пиелонефрите; у 19,4 и 25,8% — выделенных при ББУ [21]. Результаты нашего исследования продемонстрировали аналогичную картину — гены *hlyA* и *cnf1* были выявлены у 21,4 и 22,9% изолятов, выделенных при ББУ у беременных. Секретируемый аутотранспортный токсин (*sat*) также является фактором вирулентности, характерным для UPEC, выделенных при пиелонефрите. В нашем исследовании частота обнаружения гена *sat* составила 32,9%, что значительно выше, чем в работе L. Maniam и соавт. (7,5%) [19]. Ген *vat* встречается более чем у половины изолятов *E. coli*, выделенных при цистите и пиелонефрите [24]. В нашем исследовании ген *vat* был обнаружен у 42,9% изолятов *E. coli*, выделенных при ББУ.

Продукция сидерофоров, играющих важную роль в захвате железа, повышает жизнеспособность микроорганизмов внутри уретрального тракта. Присутствие этих факторов вирулентности у UPEC, по-видимому, компенсирует отсутствие других генов вирулентности, связанных с адгезией и токсинообразованием, и таким образом способствует длительной колонизации в МВП, не вызывая воспалительного ответа у хозяина. В проведённом исследовании в геноме были выявлены гены, ответственные за синтез иерсинибактина (*fyuA*) — 78,6% изолятов, сальмокселина (*iroN*) — 48,6% и аэробактина (*iuc*) — 37,1%.

Капсула выполняет защитную роль от иммунной системы хозяина, что способствует длительной персистенции в МВП. Ген *kpsMII* был выявлен нами в 65,7% изолятов, выделенных при ББУ. В аналогичных исследованиях было показано, что частота данного гена варьировала от 38 до 73% [19, 22].

Присутствие в геноме отдельных генов вирулентности не является достаточным для реализации уропатогенного потенциала. Многие исследования свидетельствуют о том, что в бактериях присутствуют сразу несколько факторов вирулентности [21, 25]. Полученные нами данные также свидетельствуют о генетическом разнообразии UPEC, выделенных при ББУ. Результаты количественного распределения факторов вирулентности в филогенетических группах показали, что у 90% изолятов *E. coli* были выявлены 2 и более маркера вирулент-

ности. *E. coli*, относящиеся к филогруппам В2, D, Е и F, ассоциированные с УРЕС, содержали большее количество генов вирулентности, чем филогруппы А и В1, ассоциированные с комменсальными штаммами. Кроме того, *E. coli*, принадлежащие филогенетической группе В2, обладали наибольшим количеством генов в различных комбинациях (от 5 до 12); достоверно чаще ($p < 0,05$) были обнаружены гены, ассоциированные с адгезией (*sfa*, *focG*), синтезом сидерофоров (*fyuA*, *iroN*, *iuc*), токсинов (*hlyA*, *cnf1*, *vat*, *usp*) и капсул (*kpsIII*).

На экспрессию факторов вирулентности и способность к адаптации изолятов УРЕС к персистенции в МВП могут влиять многочисленные факторы (иммунный ответ, способность к образованию биоплёнок). При сравнении вирулентных свойств УРЕС, выделенных при ББУ и при симптоматических ИМП (цистит, пиелонефрит) у беременных, показано, что изоляты *E. coli*, выделенные при ББУ и цистите, демонстрировали сопоставимые показатели вирулентности [22]. Определение большого количества генов вирулентности в изоляте, по мнению исследователей, может свидетельствовать об уропатогенном потенциале возбудителя, а способность к проявлению зависит от экспрессии данного гена или совокупности генов.

Заключение

Изучение молекулярной характеристики и оценки генотипического разнообразия штаммов *E. coli* необходимо для лучшего понимания их роли в патогенезе ИМП. Определение ключевых детерминант вирулентности и/или комбинации генов вирулентности может быть маркером для прогнозирования течения ИМП, особенно у беременных, и позволит расширить возможности диагностики с учётом вирулентных свойств уропатогена.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Medina M., Castillo-Pino E. An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. *Ther. Adv. Urol.* 2019;11:1756287219832172. DOI: <https://doi.org/10.1177/1756287219832172>
- Kot B. Antibiotic resistance among uropathogenic *Escherichia coli*. *Pol. J. Microbiol.* 2019;68(4):403–15. DOI: <https://doi.org/10.33073/pjm-2019-048>
- Никифоровский Н.К., Степанькова Е.А., Сухорукова А.О. Инфекции мочевыводящих путей у беременных (обзор). *Сибирский научный медицинский журнал.* 2020;40(5):18–23. Nikiforovsky N.K., Stepankova E.A., Suhorukova A.O. Urinary tract infections in pregnancy (review). *Siberian Scientific Medical Journal.* 2020;40(5):18–23. DOI: <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200502> EDN: <https://elibrary.ru/oomnqq>
- Smaill F.M., Vazquez J.C. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Cochrane. Database Syst. Rev.* 2019;2019(11):CD000490. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000490.pub4>
- Storme O., Tirán Saucedo J., Garcia-Mora A., et al. Risk factors and predisposing conditions for urinary tract infection. *Ther. Adv. Urol.* 2019;11:1756287218814382. DOI: <https://doi.org/10.1177/1756287218814382>
- Заячникова Т.Е., Селезнева Н.С. Отдаленные последствия применения антибиотиков в перинатальном периоде. *Лекарственный вестник.* 2021;15(3):56–63. Zayachnikova T.E., Selezneva N.S. Long-term consequences of the use of antibiotics in the perinatal period. *Medicinal Bulletin.* 2021;15(3):56–63. EDN: <https://elibrary.ru/myypir>
- Sora V.M., Meroni G., Martino P.A., et al. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: virulence factors and antibiotic resistance. *Pathogens.* 2021;10(11):1355. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens10111355>
- Whelan S., Lucey B., Finn K. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-associated urinary tract infections: the molecular basis for challenges to effective treatment. *Microorganisms.* 2023;11(9):2169. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092169>
- Clermont O., Christenson J.K., Denamur E., et al. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylogroups. *Environ. Microbiol. Rep.* 2013;5(1):58–65. DOI: <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>
- Halaji M., Fayyazi A., Rajabnia M., et al. Phylogenetic group distribution of uropathogenic *Escherichia coli* and related antimicrobial resistance pattern: a meta-analysis and systematic review. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022;12:790184. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.790184>
- Rezatofighi S.E., Mirzarazi M., Salehi M. Virulence genes and phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infection and uninfected control subjects: a case-control study. *BMC Infect. Dis.* 2021;21(1):361. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06036-4>
- Макарова М.А., Матвеева З.Н., Кафтырева Л.А. Интегративный подход к оценке патогенного потенциала штаммов *Escherichia coli*, выделенных из мочи. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2024;101(1):72–9. Makarova M.A., Matveeva Z.N., Kaftyreva L.A. An integrative approach to assessing the pathogenic potential of *Escherichia coli* strains isolated from urine. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2024;101(1):72–9. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-493>
- Казанцев А.В., Осина Н.А., Глинская Т.О. и др. Факторы вирулентности и филогенетическая характеристика уропатогенных штаммов *Escherichia coli*, выделенных на территории г. Саратова. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019;(4):56–60. Kazantsev A.V., Osina N.A., Glinskaya T.O., et al. Virulence factors and phylogenetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated in Saratov. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2019;(4):56–60. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-4-56-60> EDN: <https://elibrary.ru/gplihe>
- Кузнецова М.В., Гизатуллина Ю.С. Генетические профили адгезии и адгезивная вариабельность уропатогенных штаммов *Escherichia coli*. *Инфекция и иммунитет.* 2021;11(3):481–90. Kuznetsova M.V., Gizatullina J.S. Genetic adhesion profiles and adhesive variability of uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2021;11(3):481–90. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-GAP-1413> EDN: <https://elibrary.ru/edkmlc>
- Basu S., Mukherjee S.K., Hazra A., et al. Molecular characterization of uropathogenic *Escherichia coli*: nalidixic acid and ciprofloxacin resistance, virulent factors and phylogenetic background. *J. Clin. Diagn. Res.* 2013;7(12):2727–31. DOI: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/6613.3744>
- Yun K.W., Kim H.Y., Park H.K., et al. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* of urinary tract infections and asymptomatic bacteriuria in children. *J. Microbiol. Immunol.*

- Infect.* 2014;47(6):455–61.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2013.07.010>
17. Farajzadah Sheikh A., Goodarzi H., Yadyad M.J., et al. Virulence-associated genes and drug susceptibility patterns of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *Infect. Drug Resist.* 2019;12:2039–47.
DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S199764>
18. Momtaz H., Karimian A., Madani M., et al. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2013;12:8.
DOI: <https://doi.org/10.1186/1476-0711-12-8>
19. Maniam L., Vellasamy K.M., Jindal H.M., et al. Demonstrating the utility of *Escherichia coli* asymptomatic bacteriuria isolates' virulence profile towards diagnosis and management — a preliminary analysis. *PLoS One.* 2022;17(5):e0267296.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267296>
20. Spurbeck R.R., Dinh P.C. Jr., Walk S.T., et al. *Escherichia coli* isolates that carry *vat*, *fyuA*, *chuA*, and *yfcV* efficiently colonize the urinary tract. *Infect. Immun.* 2012;80(12):4115–22.
DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00752-12>
21. Tabasi M., Karam M.R., Habibi M., et al. Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* isolated from patients with acute cystitis, pyelonephritis and asymptomatic bacteriuria. *J. Clin. Diagn. Res.* 2016;10(12):DC01–DC07.
DOI: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/21379.9009>
22. Lavigne J.P., Boutet-Dubois A., Laouini D., et al. Virulence potential of *Escherichia coli* strains causing asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *J. Clin. Microbiol.* 2011;49(11):3950–3.
DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00892-11>
23. Zainel A., Mitchell H., Sadarangani M. Bacterial meningitis in children: neurological complications, associated risk factors, and prevention. *Microorganisms.* 2021;9(3):535.
DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030535>
24. Parham N.J., Pollard S.J., Desvaux M., et al. Distribution of the serine protease autotransporters of the *Enterobacteriaceae* among extraintestinal clinical isolates of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 2005;43(8):4076–82.
DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.43.8.4076-4082.2005>
25. Oliveira F.A., Paludo K.S., Arend L.N., et al. Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Genet. Mol. Res.* 2011;10(4):4114–25.
DOI: <https://doi.org/10.4238/2011.October.31.5>

Информация об авторах

Хуснутдинова Татьяна Алексеевна — к.м.н., с.н.с. отдела медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, husunutdinovat@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2742-2655>

Будиловская Ольга Викторовна — к.м.н., с.н.с. отдела медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7673-6274>

Крысанова Анна Александровна — к.м.н., с.н.с. отдела медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4798-1881>

Шалепо Кира Валентиновна — к.б.н., с.н.с. отдела медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3002-3874>

Синякова Анна Александровна — к.м.н., н.с. отдела акушерства и перинатологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3094-665X>

Савичева Алевтина Михайловна — д.м.н., профессор, зав. отделом медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3870-5930>

Коган Игорь Юрьевич — д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН, директор НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>

Участие авторов: Хуснутдинова Т.А. — методология и дизайн исследования, проведение исследования, анализ и интерпретация результатов, написание рукописи; Будиловская О.В., Крысанова А.А., Шалепо К.В. — анализ и интерпретация результатов исследования, участие в подготовке рукописи; Синякова А.А. — сбор данных, участие в подготовке рукописи; Савичева А.М. — методология и дизайн исследования, концептуализация и координация исследования, редактирование рукописи; Коган И.Ю. — концептуализация исследования, редактирование рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Information about the authors

Tatiana A. Khusnutdinova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, husunutdinovat@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2742-2655>

Olga V. Budilovskaya — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7673-6274>

Anna A. Krysanova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4798-1881>

Kira V. Shalepo — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, 2474151@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3002-3874>

Anna A. Sinyakova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of obstetrics and perinatology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3094-665X>

Alevtina M. Savicheva — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3870-5930>

Igor Yu. Kogan — D. Sci. (Med.), Professor, RAS Corresponding Member, Director, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>

Author contribution: Khusnutdinova T.A. — research methodology and design, conducting the study; analysis and interpretation of the results, writing the manuscript; Budilovskaya O.V., Krysanova A.A., Shalepo K.V. — analysis and interpretation of the results, participation in the preparation of the manuscript; Sinyakova A.A. — data collection, participation in the preparation of the manuscript, Savicheva A.M. — research methodology and design, conceptualization and coordination of the study, editing the manuscript; Kogan I. Yu. — conceptualization of the study, editing the manuscript. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a final approval of the version to be published.

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-528>



Вирулентность и тканевая специфичность разных эпидемически значимых вариантов SARS-CoV-2 для золотистых сирийских хомячков

Грачева А.В.^{1✉}, Дроков А.О.¹, Смирнова Д.И.¹, Хохлова Д.М.¹, Корчевая Е.Р.¹, Панкратов А.А.³, Трунова Г.В.³, Хохлова В.А.³, Воронцова М.С.³, Ленева И.А.¹, Свитич О.А.^{1,2}, Зверев В.В.^{1,2}, Файзулов Е.Б.^{1,4}

¹Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия;

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

³Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия;

⁴Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Животные модели инфекции SARS-CoV-2, воспроизводящие клинические особенности COVID-19 у человека, являются важными инструментами изучения патогенеза заболевания, трансмиссии возбудителя и незаменимы при испытаниях противовирусных лекарственных препаратов и вакцин.

Целью исследования являлась оценка вирулентности и тканевой специфичности для золотистых сирийских хомячков штаммов SARS-CoV-2, относящихся к разным эпидемически значимым вариантам: Ухань-подобному, Delta, Omicron BA.1.1 и Omicron BA.5.2.

Материалы и методы. Хомячков интраназально заражали разными штаммами SARS-CoV-2. Вирулентность и тканевую специфичность штаммов SARS-CoV-2 оценивали путём сравнения динамики массы, вирусной нагрузки в органах и выраженности патоморфологических изменений в лёгких у заражённых и незаражённых животных.

Результаты. Наибольшей вирулентностью для хомячков обладал Ухань-подобный штамм, что проявлялось в развитии тяжёлой пневмонии и задержке в приросте массы на 14,6%, высоком содержании вируса в лёгких, носовых ходах и головном мозге — 6,2, 5,9 и 3,7 lg ТЦД₅₀/мл гомогената соответственно. Предположительно именно поражение Ухань-подобным вирусом центральной нервной системы негативно повлияло на показатели массы и общее состояние животных. При заражении хомячков штаммами, относящимися к вариантам Delta и Omicron, незначительная потеря массы животными была неинформативной, поэтому при оценке патогенности вируса решающую роль играли такие показатели, как гистопатология лёгких, вирусная нагрузка в лёгких, носовых ходах, сердце и других органах. Особую ценность при сравнении тяжести пневмонии имела балльная оценка выраженности патоморфологических изменений в лёгких, поскольку она снижала субъективизм в оценке результатов гистологического исследования и давала полуколичественную оценку патологического процесса.

Заключение. Несмотря на выявленную более низкую вирулентность для хомячков штаммов, относящихся к вариантам Delta и Omicron, по сравнению с родоначальным Уханьским вирусом, данная животная модель COVID-19 сохраняет свою ценность для проведения доклинических испытаний противовирусных препаратов.

Ключевые слова: животная модель COVID-19, золотистые сирийские хомячки, вирулентность, тканевая специфичность, эпидемически значимые варианты SARS-CoV-2

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол № 2 от 24.05.2021).

Источник финансирования. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-25-00146, <https://rscf.ru/project/23-25-00146/>. В исследовании использовано научное оборудование центра коллективного пользования «НИИВС им. И.И. Мечникова» — при финансовой поддержке проекта Российской Федерации в лице Минобрнауки России.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Грачева А.В., Дроков А.О., Смирнова Д.И., Хохлова Д.М., Корчевая Е.Р., Панкратов А.А., Трунова Г.В., Хохлова В.А., Воронцова М.С., Ленева И.А., Свитич О.А., Зверев В.В., Файзулов Е.Б. Вирулент-

ность и тканевая специфичность разных эпидемически значимых вариантов SARS-CoV-2 для золотистых сирийских хомячков. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2024;101(4):470–482.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-528>
EDN: <https://www.elibrary.ru/jukmca>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-528>

Virulence and tissue tropism of different epidemiologically significant SARS-CoV-2 variants for golden Syrian hamsters

Anastasiia V. Gracheva^{1✉}, Andrey O. Drovkov¹, Daria I. Smirnova¹, Darya M. Khokhlova¹, Ekaterina R. Korchevaya¹, Andrey A. Pankratov³, Galina V. Trunova³, Varvara A. Khokhlova³, Maria S. Vorontsova³, Irina A. Leneva¹, Oxana A. Svitich^{1,2}, Vitaly V. Zverev^{1,2}, Evgeny B. Faizuloev^{1,4}

¹I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

³P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute — the branch of the National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia;

⁴Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Animal models for SARS-CoV-2 infection, reproducing the clinical features of COVID-19 in humans, are important tools for studying the pathogenesis of the disease, transmission of the pathogen and are indispensable for testing antiviral drugs and vaccines.

The aim of the study was to assess the virulence and tissue tropism for golden Syrian hamsters of SARS-CoV-2 strains belonging to different epidemiologically significant variants: Wuhan-like, Delta, Omicron BA.1.1 and Omicron BA.5.2.

Materials and methods. Hamsters were intranasally infected with different SARS-CoV-2 strains. Virulence and tissue tropism of SARS-CoV-2 strains were assessed by comparing the dynamics of weight, viral load in organs and histopathological changes in lungs in infected and uninfected animals.

Results. The Wuhan-like Dubrovka strain had the greatest virulence for hamsters, which was manifested by the development of severe pneumonia and a delay in weight gain by 14.6%, high virus content in the lungs, nasal passages and brain — 6.2, 5.9 and 3.7 lg TCID₅₀/ml of homogenate, respectively. Presumably, it was the infection of the Wuhan-like virus of the central nervous system that negatively affected the weight and general condition of the animals. When hamsters were infected with viruses belonging to the Delta and Omicron variants, the observed minor weight loss in animals was uninformative, so indicators such as lung histopathology, viral load in the lungs, nasal passages, heart and other organs played a decisive role in assessing the virus pathogenicity. A score assessment of lung histopathology was of particular value in assessing the severity of pneumonia, since it reduced subjectivity in evaluating the results of histological examination and provided a semi-quantitative assessment of the pathological process.

Conclusion. Despite the revealed lower virulence for hamsters of viruses belonging to the Delta and Omicron variants compared to the ancestral Wuhan virus, this animal model for COVID-19 retains its value for conducting preclinical trials of antiviral drugs.

Keywords: *animal model for COVID-19, golden Syrian hamsters, virulence, tissue tropism, epidemiologically significant SARS-CoV-2 variants*

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera (protocol No. 2, May 24, 2021).

Funding source. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-25-00146, <https://rscf.ru/project/23-25-00146/>. В исследовании использовано научное оборудование центра коллективного пользования «НИИВС им. И.И. Мечникова» — при финансовой поддержке проекта Российской Федерацией в лице Минобнауки России.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Gracheva A.V., Drovkov A.O., Smirnova D.I., Khokhlova D.M., Korchevaya E.R., Pankratov A.A., Trunova G.V., Khokhlova V.A., Vorontsova M.S., Leneva I.A., Svitich O.A., Zverev V.V., Faizuloev E.B. Virulence and tissue tropism of different epidemiologically significant SARS-CoV-2 variants for golden Syrian hamsters. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(4):470–482.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-528>

EDN: <https://www.elibrary.ru/jukmca>

Введение

Моделирование вирусных заболеваний на лабораторных животных является одной из важнейших проблем медицинской вирусологии. Появление в 2019 г. и глобальное распространение коронавируса SARS-CoV-2 (вид *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*, род *Betacoronavirus*, семейство *Coronaviridae*), сопровождавшееся высоким уровнем госпитализации и смертности среди заболевших, вызвало необходимость срочной разработки средств лечения и специфической профилактики COVID-19, что невозможно без проведения доклинических испытаний на адекватных животных моделях заболевания. С начала пандемии были предприняты значительные усилия по разработке эффективных и безопасных вакцин и терапевтических препаратов, а также проведены исследования патогенеза и особенностей иммунного ответа на инфекцию SARS-CoV-2 [1]. Успешность проведения этих исследований во многом зависела от наличия животных моделей коронавирусной инфекции, разработанных в первой декаде 2000-х гг. на фоне угрозы всемирного распространения SARS-CoV-1 — возбудителя тяжёлого острого респираторного синдрома [2], относящегося к одному виду с SARS-CoV-2. Модели инфекции, воспроизводящие на животных клинические и патологические особенности COVID-19 у человека, являются важными инструментами изучения патогенеза заболевания, трансмиссии возбудителя и незаменимы при испытаниях новых противовирусных лекарственных препаратов и вакцин [3–5].

На сегодняшний день имеется несколько животных моделей COVID-19, в первую очередь основанных на представителях отрядов приматов, хищных и грызунов. Однако проблема выбора наиболее адекватной, информативной и удобной модели остаётся актуальной. Ценность животных моделей коронавирусной пневмонии на основе приматов заключается в том, что обезьяны по своим физиологическим характеристикам и особенностям иммунной регуляции схожи с человеком. Для моделирования COVID-19 чаще всего используются макаки резусы, африканские зелёные мартышки, павианы и обыкновенная игрунка [1, 6, 7]. Основными недостатками таких моделей являются огромный спрос на животных, высокая стоимость, дефицит обученного персонала и вивариев для работы с приматами, оборудованных в соответствии с требованиями 3-го уровня биобезопасности [1, 6].

Норки, хорьки и кошки также восприимчивы к SARS-CoV-подобным коронавирусам [7–11]. Примечательно, что SARS-CoV-2 обнаруживается в носовой полости хорьков, и они могут быть инфицированы при непрямом контакте, что указывает на способность хорьков и норок передавать вирус, имитируя путь передачи SARS-CoV-2 у людей.

Недостаток таких моделей заключается в том, что эти животные являются достаточно крупными хищниками, поэтому работа с ними затруднительна. В связи с этим имеется потребность в моделях, основанных на чувствительных к вирусу мелких лабораторных животных.

Мыши и другие грызуны наиболее часто используются для моделирования COVID-19. Однако мыши дикого типа невосприимчивы к инфекции родоначальным Уханьским вирусом SARS-CoV-2 [5, 6, 12], поскольку вирус способен эффективно связываться с ACE2-рецептором человека (hACE2), но не мышинным ACE2 (mACE2). Полученные нами ранее данные свидетельствуют о том, что Ухань-подобный вирус не вызывает продуктивной инфекции у мышей BALB/c и, напротив, при заражении Omicron-подобным вирусом размножается в лёгких, тканях головного мозга и других органах [5].

Известно несколько линий генетически модифицированных мышей с hACE2-рецептором, которые были адаптированы для исследований патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний и моделирования коронавирусной инфекции [6, 12]. Эти линии трансгенных мышей, имеющие различное происхождение, способны обеспечивать стабильную экспрессию hACE2 во многих органах. Мышиная модель также имеет ряд серьёзных ограничений, включая отличия в паттернах экспрессии hACE2 в разных органах и тканях у человека и мышей. Поскольку экспрессия hACE2 у трансгенных мышей не является физиологической, заражение SARS-CoV-2 может вызывать у них нехарактерные для человека клинические проявления и патологические изменения [1]. Кроме того, трансгенные мыши малодоступны в России и отличаются высокой стоимостью.

Среди чувствительных к SARS-CoV-2 животных особый интерес представляют золотистые сирийские хомячки (*Mesocricetus auratus*; далее — хомячки). Генетическое сравнение hACE2 с аналогичными рецепторами других млекопитающих показало, что аминокислотная последовательность ACE2 хомячков очень схожа с последовательностью аналогичного человеческого рецептора, с которым она имеет всего 3–4 отличия. Кроме того, в ряде исследований ACE2 хомячков показал высокое сходство с S-белком SARS-CoV-2 и SARS-CoV [1, 3, 7].

Модель коронавирусной пневмонии на основе хомячков широко применяется в доклинических исследованиях вакцин и лекарственных препаратов [13]. На хомячках хорошо воспроизводятся симптомы, патогенез заболевания и иммунные реакции, характерные для человека с COVID-19 [3, 14]. Хомячки востребованы также при моделировании других респираторных вирусных инфекций человека [14], вызванных такими вирусами, как SARS-CoV-1 [2], вирусы гриппа [15, 16] и аденовирусы [14, 17].

Обладая такими преимуществами, как высокая скорость размножения, простота в обращении, доступная стоимость и наличие в питомниках, хомячки являются оптимальным выбором по сравнению с другими мелкими лабораторными животными.

Коронавирусное заболевание, вызванное у хомячков Ухань-подобными штаммами SARS-CoV-2, на сегодняшний день хорошо изучено и описано [13, 18–20]. Поскольку на современном этапе эпидемического процесса на смену родоначальному вирусу SARS-CoV-2 пришли новые эпидемически значимые варианты вируса (сначала Delta, потом Omicron и его потомки), представляет интерес изучение их вирулентности и патогенеза заболевания у заражённых хомячков. Ранее нами было проведено исследование, посвящённое изучению протективной активности прототипа живой аттенуированной вакцины против SARS-CoV-2 на хомячках, которое включало их заражение не только родительским Ухань-подобным вирусом, но и штаммами, относящимися к вариантам Delta и Omicron [21]. В настоящей статье нам представилось целесообразным подробнее рассмотреть и обсудить полученные результаты в контексте патогенности разных вариантов вируса для неиммунизированных хомячков.

Целью исследования являлась оценка вирулентности и тканевой специфичности для золотистых сирийских хомячков штаммов SARS-CoV-2, относящихся к разным эпидемически значимым вариантам.

Материалы и методы

Вирус

В исследовании использованы лабораторные штаммы SARS-CoV-2, изолированные в НИИВС им. И.И. Мечникова от пациентов с подтверждённым диагнозом COVID-19 в разные периоды пандемии (табл. 1). Все работы с вирусом SARS-CoV-2 проводили в условиях лаборатории 3-го уровня биобезопасности.

Культивирование SARS-CoV-2 проводили в культуре клеток эпителия почки африканской зелёной маргынши Vero CCL81 (ATCC) (далее — Vero) при 37°C в среде DMEM на основе буфера Эрла («ПанЭко») с добавлением 5% эмбриональной сы-

воротки коров («Gibco»), 300 мкг/мл L-глутамин («ПанЭко»), 40 мкг/мл гентамицина («ПанЭко») в атмосфере 5% CO₂. Трёхдневный монослой клеток Vero заражали вирусом SARS-CoV-2 при множественности заражения MOI = 0,001. Адсорбцию вируса проводили в CO₂-инкубаторе в течение 60 мин, затем добавляли поддерживающую среду (DMEM, 300 мкг/мл L-глутамин, 40 мкг/мл гентамицина) и инкубировали при 37°C до проявления выраженного цитопатического действия (ЦПД) в атмосфере 5% CO₂. После появления выраженного ЦПД культуральную жидкость осветляли центрифугированием при 4000 об/мин в течение 10 мин и хранили при –80°C до использования в экспериментах.

Титр SARS-CoV-2 определяли в культуре клеток Vero по конечной точке ЦПД. Десятикратные разведения вируса в 4 повторах вносили в лунки 96-луночного планшета с 3-дневным монослоем клеток Vero и инкубировали в течение 5 сут при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Результаты титрования оценивали при микроскопическом исследовании монослоя клеток на наличие характерного ЦПД (округление клеток и отслоение клеток от монослоя). Титр вируса рассчитывали, как описано М.А. Ramakrishnan и соавт. [22], и выражали в lg ТЦД₅₀/мл.

Животные

В работе использованы 4-недельные самки хомячков ($n = 30$) SPF массой 40–45 г (НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН, Россия). Хомячки были случайным образом распределены по группам. Содержание животных соответствовало правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник. Кормили животных брикетированными кормами в соответствии с утверждёнными нормами. При проведении экспериментального исследования на животных авторы соблюдали институциональные и национальные стандарты по использованию лабораторных животных. Проведение исследования одобрено Этическим комитетом НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол № 2 от 24.05.2021).

Дизайн

Дизайн исследования схематически представлен на рис. 1. Хомячков распределили на 5 групп

Таблица 1. Характеристики штаммов SARS-CoV-2, использованных в исследовании

Table 1. Characteristics of SARS-CoV-2 strains used in the study

Штамм Strain	Дата выделения Collection date	Номер GenBank GenBank ID	Вариант Variant	Линия по Pangolin Pangolin lineage	Пассаж Passage level	Титр, lg ТЦД ₅₀ /мл Titer, log ₁₀ TCID ₅₀ /ml
Dubrovka	04.06.2020	MW514307.1	Ухань-подобный Wuhan-like	B.1.1.317	17	7,85
Podolsk	10.08.2021	ON032860.1	Delta	AY.122	16	7,0
Otradnoe	25.01.2022	ON032857.1	Omicron	BA.1.1	8	6,0
FEB2	11.10.2022	OP920753.1	Omicron	BA.5.2	4	6,5

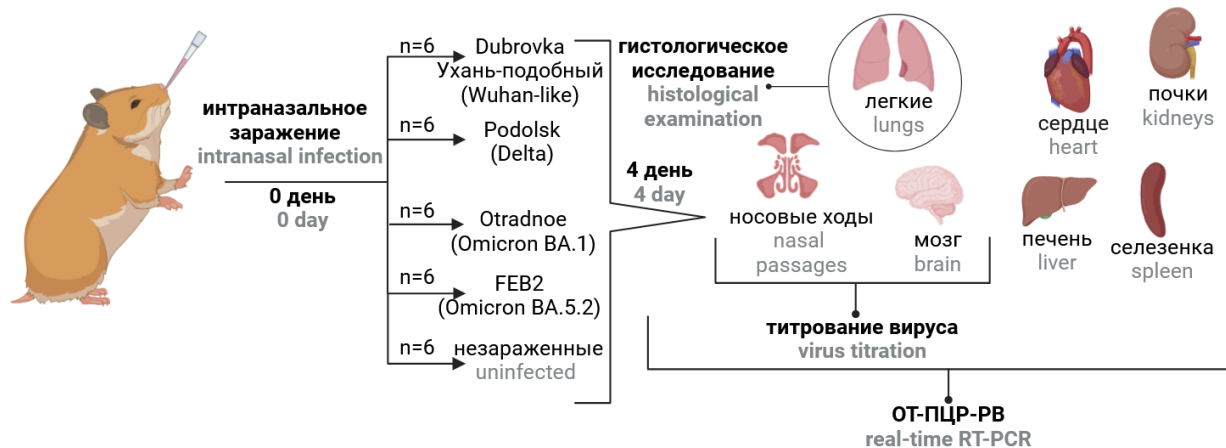


Рис. 1. Дизайн исследования.

Доза заражения — $4.0 \lg \text{TCID}_{50}$ /голову в объеме 100 мкл.

Fig. 1. Study design.

The infection dose of $4.0 \log_{10} \text{TCID}_{50}$ per animal.

по 6 животных и интраназально заразили разными штаммами вируса (табл. 1) в дозе 10^4TCID_{50} /голову (по 100 мкл). При интраназальном заражении животных обезболивали и удерживали в вертикальном положении. Группа отрицательного контроля получала эквивалентный объем фосфатно-солевого буфера pH 7,2. Ежедневно проводили контроль массы. Через 4 сут после заражения животных подвергли гуманной эвтаназии. Правое лёгкое хомячка фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине с целью проведения гистологического исследования. Ткани лёгких, головного мозга, носовых ходов, сердца, печени, селезёнки, почек и кровь собирали, гомогенизировали в 1 мл среды DMEM с гентамицином (40 мкг/мл, «ПанЭко») с использованием гомогенизатора «Tissue Lyser LT» («Qiagen») и центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 5 мин при 4°C. Надосадочную жидкость собирали для измерения титров вируса и концентрации вирусной РНК и хранили при температуре -80°C до исследования. Изменения массы тела с 1-х по 4-е сутки после заражения, титр вируса и содержание вирусной РНК в органах и тканях, выраженность воспалительных изменений в лёгких животных на 4-е сутки после заражения отражали вирулентность штамма, а распределение вирусной РНК и инфекционного вируса по органам и тканям — его тканевую специфичность.

Количественное определение РНК SARS-CoV-2

Оценку накопления вирусной РНК в органах и тканях проводили методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, как было описано ранее [23]. Вирусную РНК выделяли из образцов с использованием набора реагентов «MagnoPrime UNI» («NextBio»). Для обнаружения вирусной РНК использовали праймеры

и зонд, разработанные для гена нуклеокапсида (N) SARS-CoV-2, предложенные J. Chan и соавт. [24].

Гистологическое исследование лёгких

Правое лёгкое хомячка фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине («BioVitrum») в течение 24 ч, обезвоживали по стандартной гистологической методике, помещали в парафиновую среду Histomix («BioVitrum»). На ротационном микротоме «Leica RM 2125 RTS» («Leica») изготавливали ступенчатые продольные срезы толщиной 3–5 мкм, препараты окрашивали гематоксилином и эозином, заключали в канадский бальзам («Sigma-Aldrich»). Гистологические препараты исследовали с помощью светового микроскопа BX51 («Olympus»). Фотофиксацию полученных гистопрепаратов лёгких проводили с помощью фотокамеры «Olympus XC10» («Olympus»). Патоморфологические изменения в лёгких оценивали 2 специалиста слепым методом, используя совокупную оценку тяжести в баллах от 0 до 3 для каждого из морфологических критериев, предложенных A.D. Gruber и соавт. [25]. Максимально возможное количество баллов — 60.

Статистическая обработка данных

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения «Graphpad Prism v. 8.0.01». Данные представлены на графиках в виде среднего, стандартного отклонения (SD), стандартной ошибки (SE), медианы, верхнего и нижнего квартилей. На коробчатых диаграммах границами «ящика» являются верхний и нижний квартили выборки (25% и 75%), концы «усов» — границы статистически значимой выборки (без выбросов), линия в самом «ящике» — медиана данных. Статистическую обработку полученных результатов проводили непараметрическим методом (U-критерий

Манна–Уитни). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

При морфологическом исследовании в гистопрепаратах правого лёгкого незараженных животных патологические изменения отсутствовали (рис. 2). На 4-е сутки после заражения в гистопрепаратах лёгких хомячков всех групп выявлена бронхоинтерстициальная пневмония. Однако между группами наблюдались значительные различия в выраженности и распространённости альтеративно-воспалительных изменений.

На 4-е сутки после заражения в группах животных, зараженных Ухань-подобным штаммом Dubrovka и штаммом FEB2 (BA 5.2), наблюдались схожие по характеру и выраженности воспалительные изменения, морфологическая картина которых соответствовала бронхоинтерстициальной пневмонии в вирусной стадии. Просветы бронхов и бронхиол, находящихся в очагах пневмонии, часто содержали клеточный дебрис, макрофаги и нейтрофилы. Целостность эпителиальной выстилки была очагово нарушена вследствие миграции лимфо-

идных клеток, дистрофии, некроза и десквамации эпителиоцитов. Встречались локусы гиперплазии эпителия. Стенка бронхов и бронхиол была умеренно инфильтрирована лимфоцитами, гистиоцитами с небольшой примесью полиморфноядерных лимфоцитов. Расширенные лимфатические сосуды, расположенные по ходу бронхиального дерева, содержали скопления лимфоцитов. В зонах бифуркации бронхов встречались крупные лимфоидные скопления (гиперплазия бронхоассоциированной лимфоидной ткани). В стенках средних и мелких ветвей лёгочной артерии, сопровождающих воздухоносные пути, также наблюдались воспалительные изменения. Периваскулярная лимфоидная ткань была в состоянии резкой гиперплазии.

Крупные сливные очаги пневмонии наблюдались во всех долях органа и располагались по ходу бронхиального дерева, распространяясь к периферии. Их площадь, оценённая на качественном уровне, занимала 50–90% площади гистологического среза органа. Респираторный отдел в очагах пневмонии представлял собой безвоздушные поля, просветы альвеол в которых не определялись, межальвеолярные перегородки были разрушены

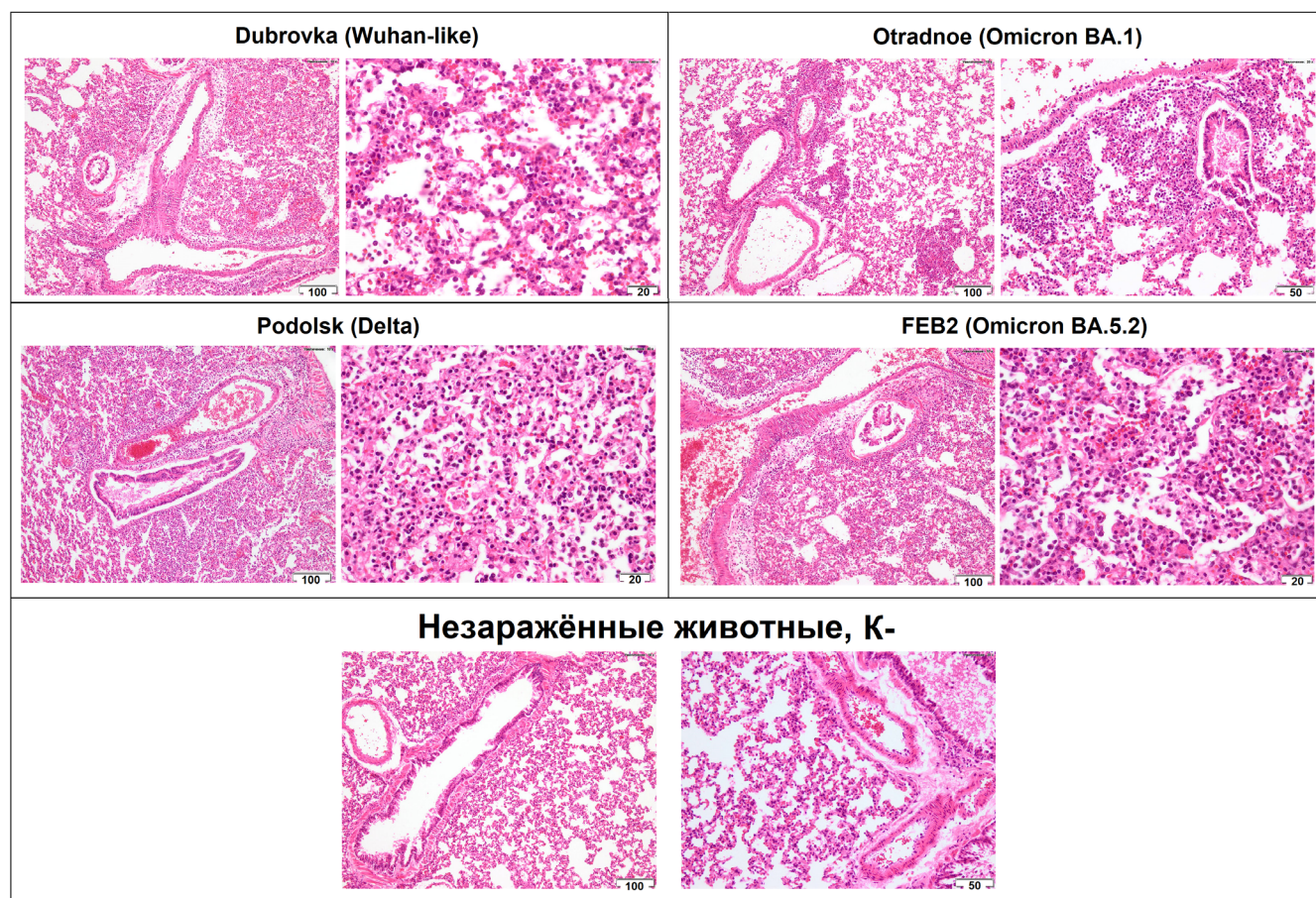


Рис. 2. Бронхоинтерстициальная пневмония у хомячков на 4-е сутки после заражения разными штаммами SARS-CoV-2.

Fig. 2. Bronchointerstitial pneumonia in hamster on the 4th day post-challenge with different SARS-CoV-2 strains.

за счёт выраженного лимфоидно-гистиоцитарного инфильтрата с незначительной примесью нейтрофилов. Среди клеток воспалительного инфильтрата были видны остатки ядер погибших клеток, фибробласты, эритроциты. В более свежих участках пневмонии воздушность респираторного отдела была снижена за счёт резкого утолщения межальвеолярных перегородок и выраженной экссудации в полость альвеол жидкой части крови и клеток воспалительного инфильтрата: макрофагов, лимфоцитов, эритроцитов. Во многих альвеолах содержался эозинофильный нитевидный материал (предположительно, фибрин). В межальвеолярных перегородках отмечены полнокровие микрососудов, интерстициальный отёк и диффузно рассеянный лимфоидно-гистиоцитарный инфильтрат.

На 4-е сутки после заражения штаммом Podolsk (Delta) выраженность и распространённость воспалительных изменений в лёгких хомячков была ниже по сравнению с таковыми в группах животных, зараженных Ухань-подобным вирусом и штаммом FEB2 (BA.5.2). Небольшие очаги интерстициальной пневмонии находились не во всех долях, располагались по ходу крупных долевых и сегментарных бронхов, а их площадь не превышала 50% площади гистологического среза органа. Просветы бронхов и бронхиол в очагах пневмонии были преимущественно свободными, содержали единичные макрофаги, лимфоциты, небольшие группы десквамированных эпителиоцитов. Эпителиальная выстилка на большом протяжении выглядела сохранной, среди клеток мерцательного эпителия встречались единичные в поле зрения объектива $\times 20$ лимфоциты. Воздушность лёгочной паренхимы в очагах пневмонии была снижена за счёт утолщения межальвеолярных перегородок. В полости альвеол наблюдали небольшие группы макрофагов, лимфоциты, единичные нейтрофилы, эритроциты и немногочисленные погибшие клетки (предположительно, альвеолоциты). Белоксодержащий экссудат в просвете альвеол встречался редко. На этом сроке эксперимента безвоздушные и сливные очаги пневмонии практически не встречались.

В гистопрепаратах лёгких хомячков, эвтаназированных на 4-е сутки после заражения штаммом Otradnoe (BA.1.1), отмечены наименее выраженные, по сравнению с другими группами, патоморфологические изменения. Небольшие очаги интерстициальной пневмонии, которые занимали не более 5–7% общей площади среза, располагались в 2–3 долях преимущественно в прикорневых участках по ходу долевых бронхов. Воспалительные изменения в стенке бронхов и сопровождающих их сосудов были выражены слабо.

При проведении гистологического исследования лёгких заражённых и незаражённых хомячков выявленным морфологическим проявлениям

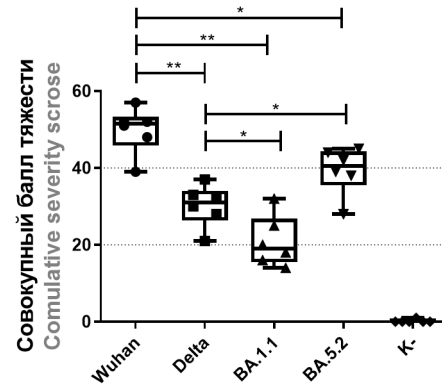


Рис. 3. Оценка тяжести пневмонии у хомячков на 4-е сутки после заражения разными штаммами SARS-CoV-2.
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Fig. 3. Histopathology score of hamster lungs on day 4 post-infection with different SARS-CoV-2 strains.
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

коронавирусной пневмонии была дана балльная оценка с применением рекомендаций A.D. Gruber и соавт. [25]. У заражённых животных совокупный балл, отражающий тяжесть воспалительного процесса, варьировал от 20,8 до 49,8, тогда как у незаражённых животных был близок к нулю (рис. 3). В группе животных, зараженных Ухань-подобным вирусом, среднее значение совокупного балла тяжести составило 50 ± 6 , Delta — 30 ± 5 , BA.1.1 — 21 ± 7 , BA.5.2 — 39 ± 6 .

Помимо выраженности патологических изменений в лёгких хомячков, важным критерием при оценке вирулентности разных штаммов SARS-CoV-2 была динамика массы тела. Наибольшая разница в массе заражённых и незаражённых животных наблюдалась на 3-и или 4-е сутки после заражения. В группе животных, заражённых Ухань-подобным вирусом, задержка в приросте массы составила 14,6% по сравнению с незаражёнными животными. Аналогичный показатель у животных, заражённых Delta, BA.1.1 и BA.5.2, составил в среднем 2–3% (рис. 4).

Поскольку основными органами-мишенями для SARS-CoV-2 являются лёгкие, носовые ходы и головной мозг, в этих органах было исследовано не только содержание вирусной РНК, но и инфекционная активность вируса. Средние значения титра вируса в тканях и органах животных значительно различались в зависимости от штамма, использованного для заражения. Так, на 4-е сутки после заражения в гомогенатах лёгких наибольшие значения титра наблюдались в группах животных, заражённых вирусами Delta и Ухань-подобным, — в среднем 7,4 и 6,2 lg ТЦД₅₀/мл гомогената, тогда как в группах, заражённых BA.1.1 и BA.5.2, титр вируса был значительно ниже — 4,6 и 5,0 lg ТЦД₅₀/мл гомогената соответственно (рис. 5). В гомогенатах носовых ходов инфекционный вирус был обнаружен

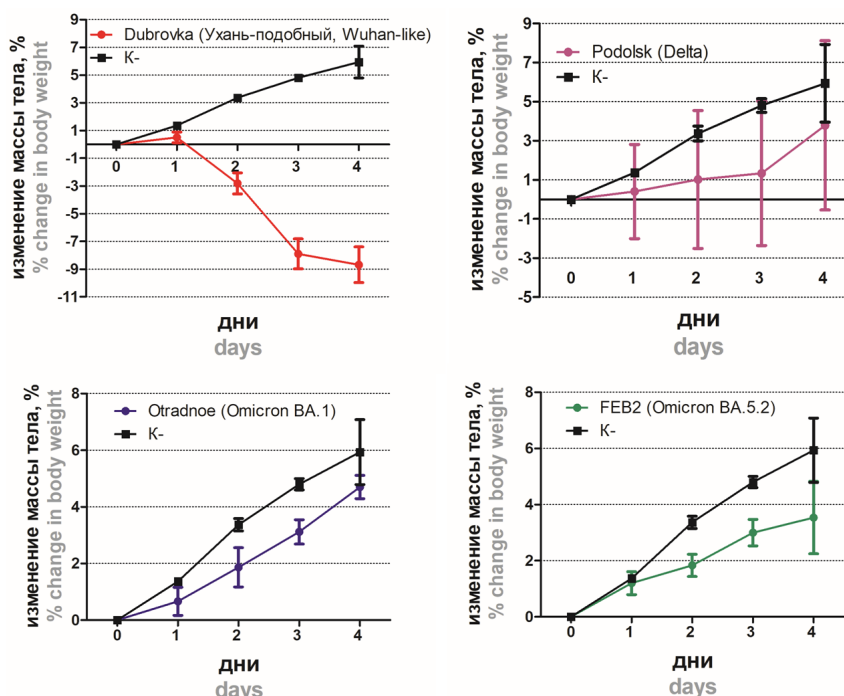


Рис. 4. Динамика массы тела хомячков, заражённых интраназально разными штаммами SARS-CoV-2.
 К— незаражённые животные.

Fig. 4. Weight dynamics in hamsters infected intranasally with different SARS-CoV-2 strains.
 K— uninfected hamsters.

у животных всех групп в титре 4,9–6,8 lg ТЦД₅₀/мл гомогената. В тканях мозга инфекционный вирус был обнаружен только у животных, зараженных Ухань-подобным вирусом (в среднем 3,7 lg ТЦД₅₀/мл гомогената). Следует отметить, что гомогенаты тканей были токсичны для клеток Vero, в которых проводилось титрование, в связи с чем предел чувствительности составлял 2,0 lg ТЦД₅₀/мл гомогената.

В лёгких заражённых животных концентрация вирусной РНК варьировала в зависимости от штамма в среднем от 7,6 до 9,3, в носовых ходах — от 8,3 до 9,3, в головном мозге — от 3,8 до 7,6 копий РНК/мл гомогената (**рис. 6**). При этом для большинства органов наблюдалась тенденция к снижению концентрации вирусной РНК в ряду: Ухань-подобный вирус > Delta > BA.1.1 > BA.5.2. Наибольший

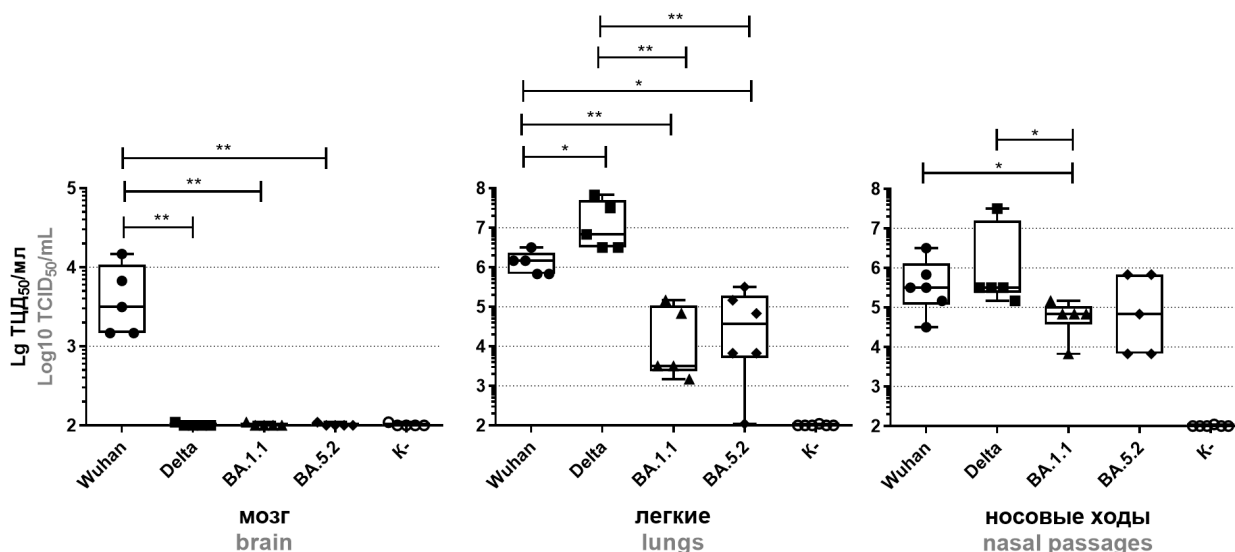


Рис. 5. Инфекционная активность разных штаммов SARS-CoV-2 в органах хомячков на 4-е сутки после заражения.
 p* < 0,05; *p* < 0,01.

Fig. 5. Titer values of different SARS-CoV-2 strains in the organs of Syrian hamsters on the 4th day after infection.
 p* < 0.05; *p* < 0.01.

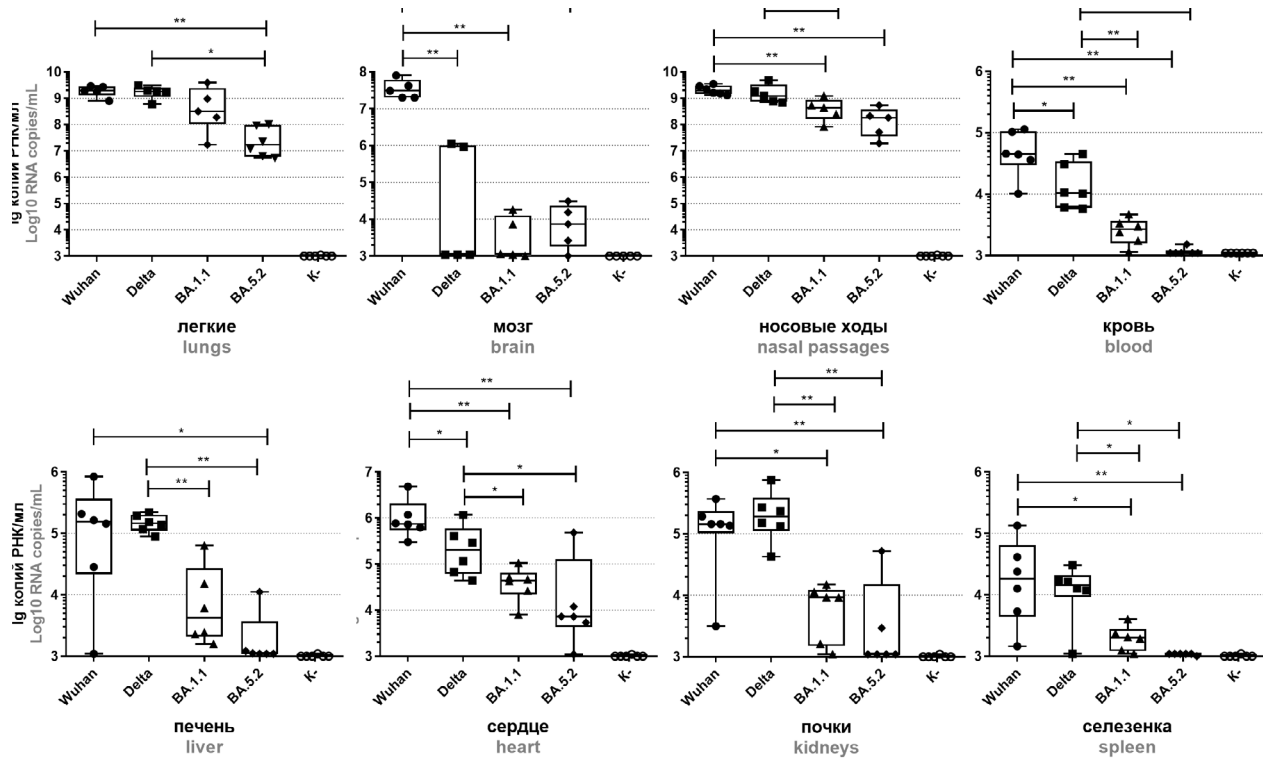


Рис. 6. Распределение вирусной РНК по органам хомячков, заражённых разными штаммами SARS-CoV-2.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Fig. 6. Distribution of viral RNA in the organs of hamsters infected with different SARS-CoV-2 strains.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

уровень вирусной РНК в лёгких, носовых ходах, головном мозге и других органах хомячков наблюдался в группах животных, заражённых Ухань-подобным вирусом и Delta. При этом концентрация вирусной РНК в гомогенатах мозга животных, заражённых Ухань-подобным вирусом, составила 7,6, Delta — 5,6, BA.1.1 и BA.5.2 — 3,8 и 4,1 lg копий РНК/мл соответственно.

В сердце, печени, почках, селезёнке и крови большинства заражённых животных вирусная РНК также была обнаружена, но на значительно более низком уровне, чем в лёгких и носовых ходах (рис. 6). Концентрация вирусной РНК в перечисленных органах животных, заражённых BA.1.1 и BA.5.2, была достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем при заражении Ухань-подобным вирусом и Delta (рис. 6). Самое низкое содержание вирусной РНК в органах наблюдалось при заражении BA.5.2, при этом в крови, почках и селезёнке большинства животных вирусная РНК не была обнаружена. Примечательно, что во всех группах заражённых животных наблюдалось значительное содержание вирусной РНК в сердце — от 4,7 до 6,1 lg копий РНК/мл гомогената.

Обсуждение

Дизайн исследования подразумевал равенство всех условий, включая единую дозу заражения

10^4 ТЦД₅₀/голову, кроме того, что животным разных групп вводили разные штаммы вируса. Поскольку SARS-CoV-2 является респираторным вирусом и передаётся воздушно-капельным путём, правильность выбора нами интраназального способа введения вируса при моделировании COVID-19 не вызывает сомнений. Данный способ введения имитирует естественный путь заражения и является наиболее простым, быстрым и неинвазивным способом заражения мелких лабораторных животных, таких как мыши и хомячки [4].

Проведённое нами исследование выявило различия в вирулентности и тканевой специфичности штаммов SARS-CoV-2, относящихся к разным эпидемически значимым вариантам. Наибольшей вирулентностью обладал Ухань-подобный штамм Dubrovka, что проявлялось в развитии субтотальной пневмонии и максимальной задержке прироста массы в среднем на 14,6%. Хомячки, заражённые штаммами Podolsk (Delta), Otradnoe и FEB2 (Omicron BA.1 и BA.5.2), теряли в массе значительно меньше — 2–3% ($p > 0,05$). Большая потеря массы и тяжёлая пневмония хомячков, заражённых Ухань-подобным вирусом, была ассоциирована с повышенным содержанием вируса в органах и вирусным поражением мозга. Нейровирулентность Ухань-подобного вируса проявлялась в достоверно

более высоком содержании вирусной РНК в мозге и выделении из гомогенатов мозга инфекционного вируса. В ряде исследований [26, 27] выявлена различная тропность вариантов SARS-CoV-2 к клеткам головного мозга и меньшая нейровирулентность варианта Omicron по сравнению с Ухань-подобным вирусом и вариантами Alpha и Delta, доминировавшими ранее [26, 27]. Сопоставление данных литературы с собственными данными о повышенной тропности Ухань-подобного вируса к тканям мозга позволяет предположить, что именно поражение центральной нервной системы могло негативно повлиять на показатели массы тела и общее состояние животных [28].

Результаты гистологического исследования лёгких подтвердили данные о разной вирулентности использованных для заражения хомячков штаммов вируса. Ухань-подобный вирус вызывал наиболее тяжёлые поражения в лёгких с обширными очагами бронхоинтерстициальной пневмонии (совокупный балл тяжести — 50), чем Delta- и Omicron-подобные вирусы (совокупный балл тяжести от 21 до 39); $p < 0,05$. Полученные результаты, свидетельствующие о более низкой вирулентности для хомячков Omicron-подобных штаммов, по сравнению с родоначальным Уханьским вирусом, согласуются с данными о более низкой патогенности варианта Omicron для человека [29], что подтверждено меньшей репродуктивной активностью вируса в культуре клеток лёгких человека Calu-3 [30]. С другой стороны, ранние выводы о более низкой вирулентности Omicron-подобных штаммов, возможно, переоценивали их аттенуацию для человека, поскольку не отделяли реальное снижение вирулентности вируса от эффекта предшествующего иммунитета, т. к. привитые и переболевшие закономерно в более лёгкой форме переносят заболевание.

Выраженность патологических изменений в лёгких при заражении разными штаммами вариантов Omicron и Delta также значительно различалась: для BA.1.1 среднее значение совокупного балла тяжести составило 21 ± 7 , для BA.5.2 — 39 ± 6 , для Delta — 30 ± 5 . Выявленная более высокая вирулентность BA.5.2 по сравнению с Delta ($p < 0,05$) не согласуется с данными, представленными в статье S. Mohandas и соавт. [31], которые обнаружили большую вирулентность Delta-подобного штамма по сравнению с сублинией BA.5.2 варианта Omicron. В связи с этим важно отметить, что вирулентность разных штаммов вирусов может определяться не только их принадлежностью к какому-либо геноварианту, но и штаммовыми отличиями, а также количеством пассажей, пройденных изолятом вируса в культуре клеток. Известно, что изоляция вируса и его пассирование в культуре клеток сопровождается накоплением мутаций, способствующих адаптации вируса к новому хозяину, при этом вирулентность для модельных лабораторных

животных снижается [32]. Так, большую вирулентность штамма FEB2 (BA.5.2) можно объяснить тем, что в нашем исследовании этот штамм перед заражением хомячков прошёл в культуре клеток Vero 4 пассажа, тогда как штамм Podolsk (Delta) — 16 пассажей, а штамм Otradnoe (BA.1.1) — 8 пассажей.

Примечательно, что в сердце животных, заражённых различными штаммами SARS-CoV-2, было обнаружено значительное содержание вирусной РНК (до 6,1 lg копий РНК/мл). Поражение сердца вирусом SARS-CoV-2 у хомячков наблюдались в ряде исследований [33, 34]. Данное наблюдение интересно и в контексте высокой вероятности развития у человека миокардита после перенесённого COVID-19. Поскольку в миоцитах человека повышена экспрессия ACE2-рецептора [35], повышаются вероятность поражения вирусом SARS-CoV-2 тканей сердца и риск развития миокардита [36, 37].

Среди мелких лабораторных животных моделирование COVID-19 возможно на различных линиях мышей, при этом наиболее восприимчивыми к SARS-CoV-2 являются трансгенные мыши линии K18-hACE2 [5]. Однако на данный момент эта линия мышей является труднодоступной, а эффективная репродукция вируса в других органах, помимо лёгких, затрудняет использование этой модели животных для моделирования вирусной пневмонии, поскольку у этих животных наблюдается высокий процент смертности по причинам, не связанным с пневмонией. Так, основной причиной гибели мышей K18-hACE2 является поражение центральной нервной системы и развитие вирусного энцефалита и других неврологических заболеваний из-за высокой экспрессии ACE2-рецептора в клетках мозга [18, 38, 39]. Заболевание мышей линии K18-hACE2 протекает в более тяжёлой форме и имеет отличия в характере клинических проявлений по сравнению с таковыми у человека.

В связи с вышеизложенным модель коронавирусной пневмонии на основе хомячков является одной из самых адекватных, доступных и информативных среди мелких лабораторных животных. У хомячков при заражении SARS-CoV-2 проявляются клинические признаки респираторного заболевания и развивается пневмония лёгкой или средней степени тяжести [18, 40]. Кроме того, они обладают способностью распространять вирус с заражением контактных наивных животных [3, 39]. Животная модель на основе хомячков получила широкое применение при проведении доклинических испытаний противовирусных препаратов и вакцин, поскольку воспроизводит развитие вирусной пневмонии без случаев гибели животного [13, 18, 41, 42]. Проведённое исследование показало, что моделирование на хомячках COVID-19, вызванного новыми вариантами вируса (Delta, BA.1.1 и BA.5.2), сохраняет свою актуальность. Данные варианты

вируса сохранили способность вызывать у хомячков пневмонию с обширными поражениями. Если динамика массы тела как показатель вирулентности стала менее информативной, то такие показатели, как вирусная нагрузка (инфекционная активность вируса и содержание вирусной РНК в органах), выраженность воспалительных изменений в лёгких, сохранили свою информативность в оценке тяжести заболевания. Особую ценность при сравнении тяжести пневмонии имеет балльная оценка выраженности патоморфологических изменений в лёгких, поскольку она снижает субъективизм в оценке результатов гистологического исследования и даёт полуколичественную оценку патологического процесса.

Заключение

Результаты проведённого исследования показали, что инфекция у сирийских золотистых хомячков, заражённых штаммами SARS-CoV-2, относящимися к разным эволюционным линиям, протекает по-разному. Выявлена более высокая вирулентность и нейротропность Ухань-подобного вируса по сравнению с вариантами Delta и Omicron, получившими широкое распространение позже. Моделирование на хомячках COVID-19, вызванного сублиниями варианта Omicron, сохраняет свою актуальность, несмотря на незначительную потерю массы животными, в отличие от заражения Ухань-подобным вирусом. При этом в оценке патогенности Omicron-подобных штаммов для хомячков решающую роль продолжают играть гистологическое исследование и такие показатели, как вирусная нагрузка в лёгких, носовых ходах, головном мозге, сердце и ряде других органов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Fan C., Wu Y., Rui X., et al. Animal models for COVID-19: advances, gaps and perspectives. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2022;7(1):220. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01087-8>
- Roberts A., Vogel L., Guarner J., et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of golden Syrian hamsters. *J. Virol.* 2005;79(1):503–11. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.79.1.503-511.2005>
- Chan J.F., Zhang A.J., Yuan S., et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a golden Syrian hamster model: Implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clin. Infect. Dis.* 2020;71(9):2428–46. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa325>
- Qi F., Qin C. Characteristics of animal models for COVID-19. *Animal Model. Exp. Med.* 2022;5(5):401–9. DOI: <https://doi.org/10.1002/ame2.12278>
- Leneva I.A., Smirnova D.I., Kartashova N.P., et al. Comparative study of Wuhan-like and omicron-like variants of SARS-CoV-2 in experimental animal models. *Vopr. Virusol.* 2022;67(5):439–49. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-135>
- Kirk N.M., Liang Y., Ly H. Pathogenesis and virulence of coronavirus disease: Comparative pathology of animal models for COVID-19. *Virulence.* 2024;15(1):2316438. DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2024.2316438>
- Muñoz-Fontela C., Dowling W.E., Funnell S.G.P., et al. Animal models for COVID-19. *Nature.* 2020;586(7830):509–15. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2787-6>
- Fenollar F., Mediannikov O., Maurin M., et al. Mink, SARS-CoV-2, and the human-animal interface. *Front. Microbiol.* 2021;12:663815. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.663815>
- Kutter J.S., de Meulder D., Bestebroer T.M., et al. SARS-CoV and SARS-CoV-2 are transmitted through the air between ferrets over more than one meter distance. *Nat. Commun.* 2021;12(1):1653. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21918-6>
- Ciurkiewicz M., Armando F., Schreiner T., et al. Ferrets are valuable models for SARS-CoV-2 research. *Vet. Pathol.* 2022;59(4):661–72. DOI: <https://doi.org/10.1177/03009858211071012>
- Martins M., Nooruzzaman M., Cunningham J.L., et al. The SARS-CoV-2 spike is a virulence determinant and plays a major role on the attenuated phenotype of Omicron virus in a feline model of infection. *J. Virol.* 2024;98(3):e0190223. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.01902-23>
- Bao L., Deng W., Huang B., et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. *Nature.* 2020;583(7818):830–3. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2312-y>
- Xue Y., Yang D., Vogel P., et al. Cardiopulmonary Injury in the Syrian hamster model of COVID-19. *Viruses.* 2022;14(7):1403. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14071403>
- Miao J., Chard L.S., Wang Z., Wang Y. Syrian hamster as an animal model for the study on infectious diseases. *Front. Immunol.* 2019;10:2329. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02329>
- Iwatsuki-Horimoto K., Nakajima N., Ichiko Y., et al. Syrian hamster as an animal model for the study of human influenza virus infection. *J. Virol.* 2018;92(4):e01693–17. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.01693-17>
- Fan S., Gu C., Kong H., et al. Influenza viruses suitable for studies in Syrian hamsters. *Viruses.* 2022;14(8):1629. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14081629>
- Toth K., Lee S.R., Ying B., et al. STAT2 knockout Syrian hamsters support enhanced replication and pathogenicity of human adenovirus, revealing an important role of type I interferon response in viral control. *PLoS Pathog.* 2015;11(8):e1005084. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005084>
- Rosenke K., Meade-White K., Letko M., et al. Defining the Syrian hamster as a highly susceptible preclinical model for SARS-CoV-2 infection. *Emerg. Microbes Infect.* 2020;9(1):2673–84. DOI: <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1858177>
- Xu J., Liu M., Niu X., et al. The cold-adapted, temperature-sensitive SARS-CoV-2 strain TS11 is attenuated in Syrian hamsters and a candidate attenuated vaccine. *Viruses.* 2022;15(1):95. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15010095>
- Wang Y., Yang C., Song Y., et al. Scalable live-attenuated SARS-CoV-2 vaccine candidate demonstrates preclinical safety and efficacy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2021;118(29):e2102775118. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2102775118>
- Faizuloev E.B., Gracheva A., Korchevaya E.R., et al. Single intranasal immunization with attenuated Wuhan-like SARS-CoV-2 provides highly effective cross-protection against Delta and Omicron variants of concern: 1. *J. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2024;101(1):36–51. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3279049/v1>
- Ramakrishnan M.A. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. *World J. Virol.* 2016;5(2):85–6. DOI: <https://doi.org/10.5501/wjv.v5.i2.85>
- Gracheva A.V., Korchevaya E.R., Ammour Y.I., et al. Immunogenic properties of SARS-CoV-2 inactivated by ultraviolet light. *Arch. Virol.* 2022;167(11):2181–91. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05530-7>
- Chan J.F., Yip C.C., To K.K., et al. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific

- COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-PCR assay validated in vitro and with clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2020;58(5):e00310-20.
DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00310-20>
25. Gruber A.D., Osterrieder N., Bertzbach L.D., et al. Standardization of reporting criteria for lung pathology in SARS-CoV-2-infected hamsters: what matters? *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2020;63(6):856–9.
DOI: <https://doi.org/10.1165/rmb.2020-0280LE>
26. Bauer L., van Riel D. Do SARS-CoV-2 variants differ in their neuropathogenicity? *mBio.* 2023;14(1):e0292022.
DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.02920-22>
27. Bauer L., Rissmann M., Benavides F.F.W., et al. In vitro and in vivo differences in neurovirulence between D614G, Delta and Omicron BA.1 SARS-CoV-2 variants. *Acta Neuropathol. Commun.* 2022;10(1):124.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s40478-022-01426-4>
28. Bauer L., Laksono B.M., de Vrij F.M.S., et al. The neuroinvasiveness, neurotropism, and neurovirulence of SARS-CoV-2. *Trends Neurosci.* 2022;45(5):358–68.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2022.02.006>
29. Trunfio M., Portesani F., Vicinanza S., et al. Real-life evidence of lower lung virulence in COVID-19 inpatients infected with SARS-CoV-2 Omicron variant compared to wild-type and Delta SARS-CoV-2 pneumonia. *Lung.* 2022;200(5):573–7.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00408-022-00566-7>
30. Purwono P.B., Vacharathit V., Manopwisedjaroen S., et al. Infection kinetics, syncytia formation, and inflammatory biomarkers as predictive indicators for the pathogenicity of SARS-CoV-2 Variants of Concern in Calu-3 cells. *PLoS One.* 2024;19(4):e0301330.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301330>
31. Mohandas S., Shete A., Kumar A., et al. Comparative pathogenicity of BA.2.12, BA.5.2 and XBB.1 with the Delta variant in Syrian hamsters. *Front. Microbiol.* 2023;14:1183763.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1183763>
32. Li X.F., Cui Z., Fan H., et al. A highly immunogenic live-attenuated vaccine candidate prevents SARS-CoV-2 infection and transmission in hamsters. *Innovation (Camb).* 2022;3(2):100221.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2022.100221>
33. Daems M., Liesenborghs L., Boudewijns R., et al. SARS-CoV-2 infection causes prolonged cardiomyocyte swelling and inhibition of HIF1 α translocation in an animal model COVID-19. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022;9:964512.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.964512>
34. Jones E.A.V. Mechanism of COVID-19-induced cardiac damage from patient, in vitro and animal studies. *Curr. Heart Fail Rep.* 2023;20(5):451–60.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11897-023-00618-w>
35. Liu H., Gai S., Wang X., et al. Single-cell analysis of SARS-CoV-2 receptor ACE2 and spike protein priming expression of proteases in the human heart. *Cardiovasc. Res.* 2020;116(10):1733–41.
DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa191>
36. Ishisaka Y., Watanabe A., Aikawa T., et al. Overview of SARS-CoV-2 infection and vaccine associated myocarditis compared to non-COVID-19-associated myocarditis: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Cardiol.* 2024;395:131401.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2023.131401>
37. Thaker R., Faraci J., Derti S., Schiavone J.F. Myocarditis in SARS-CoV-2: A meta-analysis. *Cureus.* 2023;15(10):e48059.
DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.48059>
38. Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., et al. Pathogenesis of SARS-CoV-2 in transgenic mice expressing human angiotensin-converting enzyme 2. *Cell.* 2020;182(1):50–58.e8.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.027>
39. Sia S.F., Yan L.M., Chin A.W.H., et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature.* 2020;583(7818):834–8.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2342-5>
40. Imai M., Iwatsuki-Horimoto K., Hatta M., et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2020;117(28):16587–95.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2009799117>
41. Yuan S., Ye Z.W., Liang R., et al. Pathogenicity, transmissibility, and fitness of SARS-CoV-2 Omicron in Syrian hamsters. *Science.* 2022;377(6604):428–33.
DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abn8939>
42. Mohandas S., Yadav P.D., Sapkal G., et al. Pathogenicity of SARS-CoV-2 Omicron (R346K) variant in Syrian hamsters and its cross-neutralization with different variants of concern. *EBio-Medicine.* 2022;79:103997.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103997>

Информация об авторах

Грачева Анастасия Вячеславовна[✉] — н.с. лаб. прикладной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, anastasiia.gracheva.95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8428-4482>

Дроков Андрей Олегович — стажёр лаб. прикладной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0006-3300-8078>

Смирнова Дарья Ильинична — м.н.с. лаб. прикладной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7325-0834>

Хохлова Дарья Михайловна — м.н.с. лаб. прикладной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0003-5745-7589>

Корчевая Екатерина Романовна — м.н.с. лаб. прикладной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6417-3301>

Панкратов Андрей Александрович — к.б.н., зав. отделением экспериментальной фармакологии и токсикологии МНИОИ им. П.А. Герцена — филиала НМИЦ радиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7291-9743>

Трунова Галина Валентиновна — к.б.н., с.н.с. отделения экспериментальной фармакологии и токсикологии МНИОИ им. П.А. Герцена — филиала НМИЦ радиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2917-4496>

Information about the authors

Anastasiia V. Gracheva[✉] — researcher, Applied virology laboratory, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, anastasiia.gracheva.95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8428-4482>

Andrey O. Drovkov — student, intern, Applied virology laboratory, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0006-3300-8078>

Daria I. Smirnova — junior researcher, Applied virology laboratory, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7325-0834>

Darya M. Khokhlova — junior researcher, Applied virology laboratory, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0003-5745-7589>

Ekaterina R. Korchevaya — junior researcher, Applied virology laboratory, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6417-3301>

Andrey A. Pankratov — Cand. Sci. (Biol.), Head, Department of experimental pharmacology and toxicology, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute, National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7291-9743>

Galina V. Trunova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Department of experimental pharmacology and toxicology, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute, National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2917-4496>

Хохлова Варвара Андреевна — м.н.с. отделения экспериментальной фармакологии и токсикологии МНИОИ им. П.А. Герцена — филиала НМИЦ радиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0339-2068>

Воронцова Мария Сергеевна — к.б.н., м.н.с. отделения экспериментальной фармакологии и токсикологии МНИОИ им. П.А. Герцена — филиала НМИЦ радиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9320-1746>

Ленева Ирина Анатольевна — д.б.н., зав. лаб. экспериментальной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7755-2714>

Свитич Оксана Анатольевна — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, директор НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; профессор каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Зверев Виталий Васильевич — д.б.н., профессор, академик РАН, научный руководитель НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Файзулов Евгений Бахтиерович — к.б.н., зав. лаб. прикладной вирусологии НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; старший преподаватель кафедры вирусологии РМАНПО, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7385-5083>

Вклад авторов: *Грачева А.В.* — дизайн исследования, экспериментальная часть, написание статьи; *Дроков А.О., Смирнова Д.И., Хохлова Д.М., Корчевая Е.Р.* — экспериментальная часть, сбор и анализ данных, визуализация; *Панкратов А.А., Трунова Г.В., Хохлова В.А., Воронцова М.С.* — гистологическое исследование лёгких; *Ленева И.А., Свитич О.А., Зверев В.В.* — методология, редактирование статьи; *Файзулов Е.Б.* — концепция исследования, методология, написание и редактирование статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 01.05.2024;
принята к публикации 02.07.2024;
опубликована 29.08.2024

Varvara A. Khokhlova — junior researcher, Department of experimental pharmacology and toxicology, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute, National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0339-2068>

Maria S. Vorontsova — Cand. Sci. (Biol.), junior researcher, Department of experimental pharmacology and toxicology, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute, National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9320-1746>

Irina A. Leneva — D. Sci. (Biol.), Head, Experimental virology laboratory, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7755-2714>

Oksana A. Svitich — D. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of RAS, Director, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia; Prof., Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Vitaly V. Zverev — D. Sci. (Biol.), Prof., Academician of RAS, scientific director, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia; Head, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Evgeny B. Faizulov — Cand. Sci. (Biol.), Head, Applied virology laboratory, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia; senior lecturer, Department of virology, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7385-5083>

Author contributions: *Gracheva A.V.* — research design, experiments, writing and editing the manuscript; *Drokov A.O., Smirnova D.I., Khokhlova D.M., Korchevaya E.R.* — experiments, data collection, statistical analysis; *Pankratov A.A., Trunova G.V., Khokhlova V.A., Vorontsova M.C.* — histology; *Leneva I.A., Svitich O.A., Zverev V.V.* — methodology, revision of the manuscript. *Faizulov E.B.* — research conception, methodology, writing and editing the manuscript. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 01.05.2024;
accepted for publication 02.07.2024;
published 29.08.2024



Молекулярно-генетическая характеристика *Streptococcus pneumoniae* серогрупп 15 и 11, циркулирующих в России, и их связь с глобальными генетическими линиями

Исаева Г.Ш.^{1, 2*}, Цветкова И.А.^{3, 4}, Никитина Е.В.³, Зарипова А.З.^{1, 5}, Баязитова Л.Т.^{1, 2}, Исаева Р.А.^{1, 2}, Полев Д.Е.⁶, Сайтова А.Т.⁶, Краева Л.А.⁶, Гончаров Н.Е.⁶, Калиногорская О.С.³, Гордеева С.А.⁷, Сидоренко С.В.³

¹Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия;

²Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии, Казань, Россия;

³Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия;

⁴Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия;

⁵Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан), Казань, Россия;

⁶Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

⁷Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Цели исследования — генетический анализ *Streptococcus pneumoniae* серогрупп 15 и 11, циркулирующих в России, по параметрам: серотиповая принадлежность; клональный комплекс (СС); наличие детерминант резистентности и вирулентности; взаимосвязь с циркулирующими в мире генетическими линиями; наличие уникальных генов, значимых для проявления вирулентности; обоснование актуальных серотипов серогрупп 15 и 11 для включения в состав будущей конъюгированной вакцины.

Материалы и методы. В исследование включены полногеномные данные *S. pneumoniae* серогрупп 11 и 15.

Результаты. Российские геномы серогруппы 15 представлены в основном серотипами 15В и 15С, большинство относится к СС-1025, СС-1262. Для СС-1025 характерна более частая ассоциация с инвазивными заболеваниями. Представители СС-1025 и СС-1262 содержат уникальные для данных генетических линий, в пределах изучаемой популяции серогруппы 15, детерминанты вирулентности: транспортеры олигопептидов, фруктозоспецифичную фосфотрансферазную транспортную систему, уникальные варианты гидролаз, дополнительные транспортеры ионов железа, ген цинковой металлопротеазы ZmpC (активирующей матриксную металлопротеиназу 9 человека). Геномы серогруппы 11 представлены в основном серотипом 11А, большинство относится к СС-62 и СС-1012. К уникальным для СС-62 детерминантам вирулентности (в пределах изучаемой серогруппы 11) относятся бактериоцины, компоненты транспорта олигопептидов, флавинредуктазаподобный белок (адгезин, также защищает бактерии от окислительного стресса), оперон процессинга фукозы, PsaA (адгезин, также является компонентом АТФ-связывающего кассетного транспортера, импортирующего ионы марганца).

Выводы. В России среди невакцинных серогрупп распространены серогруппы 15 и 11. В геномах представителей этих серогрупп детерминант антимикробной резистентности не выявлено. Для каждой из распространённых в России генетических линий, ассоциированных с серогруппами 15 и 11, идентифицированы уникальные в пределах изучаемой серогруппы детерминанты вирулентности, которые могут способствовать успешности данных линий. В перспективные для России вакцины целесообразно включение серотипов 15В и 11А.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, серогруппы 11 и 15, сиквенс-типы, генетические линии, вакцинация, вирулентность

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов или их законных представителей. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом SAPIENS (протокол № 3.1 от 27.01.2020).

Источник финансирования. Исследование проведено в рамках гранта SAPIENS (Scientific Assessment of Pneumococcal Infection Epidemiology Networks). Спонсор исследования: Благотворительный Фонд Ростроповича–Вишневецкой «Во имя здоровья и будущего детей» при содействии Общероссийской общественной организации «Педиатрическое респираторное общество».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Исаева Г.Ш., Цветкова И.А., Никитина Е.В., Зарипова А.З., Баязитова Л.Т., Исаева Р.А., Полев Д.Е., Сайтова А.Т., Краева Л.А., Гончаров Н.Е., Калиногорская О.С., Гордеева С.А., Сидоренко С.В. Молекулярно-генетическая характеристика *Streptococcus pneumoniae* серогрупп 15 и 11, циркулирующих

в России, и их связь с глобальными генетическими линиями. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):483–501.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-498>
EDN: <https://www.elibrary.ru/gciets>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-498>

Molecular genetic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* serogroups 15 and 11 representatives circulating in Russia and their relationship with global genetic lineages

Guzel Sh. Isaeva^{1,2✉}, Irina A. Tsvetkova^{3,4}, Ekaterina V. Nikitina³, Albina Z. Zaripova^{1,5}, Lira T. Bayazitova^{1,2}, Regina A. Isaeva^{1,2}, Dmitry E. Polev⁶, Alina T. Saitova⁶, Lyudmila A. Kraeva⁶, Nikita E. Goncharov⁶, Olga S. Kalinogorskaya³, Svetlana A. Gordeeva⁷, Sergey V. Sidorenko³

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

²Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia;

³Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia;

⁴St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia;

⁵Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan (Tatarstan), Kazan, Russia;

⁶Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia;

⁷Clinical Infectious Diseases Hospital named after S.P. Botkin, St. Petersburg, Russia

Abstract

Aim of the study. Genetic analysis of *Streptococcus pneumoniae* serogroups 15 and 11 circulating in Russia according to the following parameters: serotype affiliation; clonal complex (CC); presence of resistance and virulence determinants; relatedness to genetic lineages circulating in the world, and justification of inclusion of the actual serotypes of serogroups 15 and 11 in the future conjugate vaccine composition.

Materials and methods. The study included whole genome data of *S. pneumoniae* serogroups 11 and 15.

Results. Genomes of serogroup 15 strains from Russia are represented mainly by serotypes 15B and 15C, the majority of which belong to CC-1025 and CC-1262. CC-1025 is characterized by a more frequent association with invasive diseases. Representatives of CC-1025 and CC-1262 contain virulence determinants unique to these genetic lineages within the studied population of serogroup 15: oligopeptide transporters, fructose-specific PTS system, unique hydrolase variants, additional iron ion transporters, the gene of zinc metalloprotease ZmpC (activating human MMP9). The genomes of serogroup 11 are represented mainly by serotype 11A, the majority belong to CC-62 and CC-1012. The virulence determinants unique to CC-62 (within the studied serogroup 11) include bacteriocins, components of oligopeptide transport, flavin reductase-like protein (adhesin, also protects bacteria from oxidative stress), fucose processing operon, PsaA (adhesin, also a component of the ATP-binding cassette transporter that imports manganese ions).

Conclusion. In the Russian Federation, serogroups 15 and 11 are the most common non-vaccine serogroups. No antimicrobial resistance determinants have been identified in the genomes of representatives of these serogroups. For each of the genetic lineages prevalent in Russia and associated with serogroups 15 and 11, unique virulence determinants within the studied serogroup have been identified, which may contribute to the success of these lineages. It is advisable to include serotypes 15B and 11A in vaccines promising for the Russian Federation.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, serogroups 11 and 15, sequence types, genetic lineages, vaccination, virulence.

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients or their legal representatives. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the SAPIENS (protocol 3.1, January 27, 2020).

Funding source. The study was conducted under the SAPIENS (Scientific Assessment of Pneumococcal Infection Epidemiology Networks) grant. Sponsor of the study: Rostropovich-Vishnevskaya Charitable Foundation "For the sake of children's health and future" with the assistance of the All-Russian Public Organization "Pediatric Respiratory Society".

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Isaeva G.Sh., Tsvetkova I.A., Nikitina E.V., Zaripova A.Z., Bayazitova L.T., Isaeva R.A., Polev D.E., Saitova A.T., Kraeva L.A., Goncharov N.E., Kalinogorskaya O.S., Gordeeva S.A., Sidorenko S.V. Molecular genetic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* serogroups 15 and 11 representatives circulating in Russia and their relationship with global genetic lineages. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(4):483–501.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-498>

EDN: <https://www.elibrary.ru/gciets>

Актуальность

Инвазивные пневмококковые заболевания (пневмонии, менингиты и сепсис) являются наиболее распространённой причиной смертности среди детей в возрасте до 5 лет и взрослых на фоне снижения иммунной защиты [1, 2].

Известно более 100 серотипов *Streptococcus pneumoniae*, часть из которых обладают высокой вирулентностью и способны вызывать инвазивную пневмококковую инфекцию. В период после внедрения пневмококковой вакцинации конъюгированными полисахаридными вакцинами в национальные программы иммунизации детей происходит замещение распространённых ранее серотипов на невакцинные [3]. В России разрешены к применению две конъюгированные полисахаридные вакцины: 10-валентная (Синфлорикс, «GlaxoSmithKline») и 13-валентная (Превенар 13, ПКВ13, «Pfizer»), а также 23-валентная полисахаридная вакцина (Пневмомакс 23, «Merk Sharp & Dohme»). ПКВ13 включена в национальный календарь прививок для иммунизации детей.

Уже на ранних сроках после начала национальной программы вакцинации ПКВ13 отмечалось изменение серотипового состава популяции *S. pneumoniae* среди здоровых детей, при этом охват циркулирующих серотипов вакциной ПКВ13 составляет около 50% [4]. Среди серотипов, не охватываемых вакциной ПКВ13, у вакцинированных здоровых детей преобладают пневмококки серогрупп 15 и 11 как в ранний (2016–2018 гг.) [4], так и в поздний (2020–2022 гг.) периоды после начала вакцинации [5–7]. Необходимо отметить, что мало распространённые в довакцинальный период штаммы серогрупп 15BC и 11AD встречались в соответствующий период у детей [8], а также у взрослых [9, 10] с пневмококковым менингитом.

В популяции пневмококка часто наблюдается ассоциация серотипа с определённой генетической линией — группой близкородственных изолятов, принадлежащих к одному или нескольким близкородственным клональным комплексам (CC) или доминирующим сиквенс-типам (ST). Популяции пневмококков серогрупп 15 и 11 имеют региональные особенности. Так, представители серогруппы 15 ассоциируются с генетическими линиями CC-199 и CC-63 в США и Исландии, с CC-1025 и CC-1262 в России (данные базы PubMLST). Представители серогруппы 11 ассоциируются преимущественно с повсеместно распространённой генетической линией CC-62, но в России также распространена генетическая линия CC-1012). В некоторых регионах (Япония) отмечается увеличение распространённости мультирезистентных штаммов серотипа 15A [11]. Таким образом, мониторинг антибиотикочувствительности появляющихся эпидемиологически значимых генетических линий также имеет важное значение.

В связи со значимым ростом распространённости серотипов серогрупп 15 и 11 среди различных групп населения на фоне повсеместно проводимой вакцинации ПКВ13, а также в связи с их ассоциацией с инвазивными заболеваниями, анализ данных штаммов имеет фундаментальную и практическую значимость. В частности, идентификация отдельных серотипов в пределах указанных серогрупп (поскольку рутинные методы молекулярного типирования не позволяют дифференцировать близкие серотипы), анализ накопленных данных о перекрёстной иммуногенности близких серотипов, изучение инвазивного потенциала генетических линий, ассоциированных с данными серотипами, — всё это имеет важное значение для определения серотипового состава будущей перспективной для России конъюгированной полисахаридной вакцины.

Цели исследования — генетический анализ *S. pneumoniae* серогрупп 15 и 11, циркулирующих в России, по параметрам: серотиповая принадлежность; клональный комплекс; наличие детерминант резистентности и вирулентности; взаимосвязь с циркулирующими в мире генетическими линиями; наличие уникальных генов, значимых для проявления вирулентности; обоснование актуальных серотипов серогрупп 15 и 11 для включения в состав будущей конъюгированной вакцины.

Материалы и методы

Формирование выборок

В исследование включены штаммы серогрупп 11 и 15 *S. pneumoniae* из России, для которых были доступны полногеномные данные: изоляты, выделенные в Детском научно-клиническом центре инфекционных болезней и Клинической инфекционной больнице им. С.П. Боткина (Санкт-Петербург), Казанском научно-исследовательском институте эпидемиологии и микробиологии (в рамках проекта SAPIENS), а также полногеномные данные изолятов из различных городов России, полученные в ходе исследования ПЕГАС [10, 12].

Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов или их законных представителей. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом SAPIENS (версия 3.1 от 27.01.2020).

Выбор серотипов объясняется существенным распространением пневмококков, принадлежащих данным серотипам, на фоне вакцинации ПКВ13, при этом только серотипы 11А и 15В включены в новую ПКВ20 («Pfizer», в настоящее время не зарегистрирована в России) и в Пневмомакс 23. Отобранные изоляты были выделены в различные периоды времени (с 2001 по 2022 г.) от носителей и пациентов с инвазивными заболеваниями, от пациентов различных возрастных групп. Две выборки

были дополнены полногеномными данными штаммов *S. pneumoniae*, выделенных в различных регионах мира — 23 штамма для серогруппы 11 и 13 штаммов для серогруппы 15. При отборе полногеномных данных *S. pneumoniae* из других регионов мира в выборку включались представители всех доступных в базе данных PubMLST ST, ассоциированных с анализируемыми серотипами пневмококка, из различных регионов мира с интервалом 1–4 года (в зависимости от распространённости).

Выборка образцов серогруппы 15 включала геномы 45 изолятов: 32 из России и 13 из других регионов мира. В анализ были включены полногеномные данные изолятов, выделенных из различных клинических образцов: от пациентов с менингитом ($n = 11$; источник выделения — ликвор), пневмонией ($n = 11$; источник выделения: 10 — мокрота, 1 — не указан), острым средним отитом ($n = 3$; источник выделения — жидкость среднего уха), от носителей ($n = 20$; источник выделения — носоглотка).

Выборка образцов серогруппы 11 включала геномы 38 изолятов: 15 из России и 23 из других регионов мира. В анализ были включены полногеномные данные изолятов, выделенных из различных клинических образцов: от пациентов с менингитом ($n = 3$; источник выделения — ликвор), пневмонией ($n = 8$; источник выделения — мокрота), острым средним отитом ($n = 3$; источник выделения — жидкость среднего уха), от носителей ($n = 20$; источник выделения — носоглотка), в 1 случае отсутствовала информация о диагнозе (источник выделения — кровь). Для 3 изолятов отсутствовала информация о диагнозе и источнике выделения.

Полногеномное секвенирование

Полногеномное секвенирование (whole genome sequencing, WGS) изолятов пневмококка, выделенных в Санкт-Петербурге или в рамках проекта SAPIENS, было выполнено в НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. ДНК из чистых культур *S. pneumoniae* выделяли при помощи набора «QIAamp DNA Mini Kit» («Qiagen»). WGS выполняли на платформе «DNBSEQ-G50» («MGI»). Библиотеки для WGS готовили при помощи набора «MGIEasy Fast FS DNA Library Prep Set» («MGI») согласно стандартным протоколам производителя. Медиана длины фрагментов библиотеки составила 430 п.о. (идентифицировано с помощью системы капиллярного гель-электрофореза «QIAxcel Advanced system»). Секвенирование с получением парно-концевых прочтений выполняли на платформе «DNBSEQ-G50» («MGI») с использованием наборов «DNBSEQ-G50RS» (FCL PE150/FCS PE150). Полногеномные данные 11 изолятов *S. pneumoniae* загружены в GenBank (BioProject PRJNA971376, BioProject PRJNA1009429, BioProject PRJNA1076328, BioProject PRJNA1154393).

Биоинформатический анализ

Для изолятов, секвенированных в НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, качество полученных нуклеотидных последовательностей оценивали с помощью программы «FastQC v. 0.11.8» («Vabraham Bioinformatics»). Фильтрация ридов по качеству и удаление адаптеров и праймеров ПЦР, используемых при подготовке библиотек, выполнены с помощью программы «Cutadapt v. 1.15». Для сборки геномов *de novo* использовали алгоритм «SPAdes v. 3.15.4». Финальная оценка качества была проведена с помощью программы «Quast v. 5.0.2». Определение ST по схеме MLST-типирования (Multilocus sequence typing) выполнено с помощью программы «MLST v. 2.0»¹. Геномы были аннотированы с помощью RAST сервера (Rapid Annotations using Subsystems Technology). Серогрупповая и серотиповая принадлежность штаммов установлены с помощью программы blastall с порогом E-value < 0,01. Полученные совпадения были отфильтрованы по значениям bit-score и идентичности. Поиск проводился против локально настроенной базы последовательностей *crs*-локусов 90 серотипов. Гены и мутации, ассоциирующиеся с устойчивостью к антибиотикам, идентифицировали по базе данных CARD [13]. Для сравнения геномов использовали методы для анализа ядерного генома и пангенома (R-пакет «micropan: Microbial Pan-Genome Analysis v. 2.1») [14]. Кластеры ортологов идентифицировали на основании расстояний, рассчитанных при попарном сравнении аминокислотных последовательностей. В основе кластеризации использовали метод полной связи (complete-linkage clustering), при котором расстояние между кластерами равно максимальному расстоянию между точками из разных кластеров. Пороговый критерий расстояния (threshold = 0,75). Для выявления ассоциаций уникальных кластеров ортологов с генетическими линиями оценивали статистику наличия/отсутствия/вариабельности генов в геномах анализируемых изолятов с помощью пакета «Scoary v. 1.6.16»² [15].

Статистический анализ

Для статистической обработки была использована программа «Scoary», которая позволяет получить список значимых для соответствующего признака генов, связанных с признаком положительно или отрицательно, отсортированных по *p*-значениям.

Результаты

Для анализа популяций *S. pneumoniae* серогрупп 15 и 11, циркулирующих в России; характе-

¹ Center for Genomic Epidemiology.

URL: <https://cge.food.dtu.dk/services/MLST/>

² URL: <https://github.com/AdmiralenOla/Scoary>

ристики генетических взаимоотношений между циркулирующими в России и мире генетическими линиями серогрупп 15 и 11 был выполнен анализ пангеномов. Для этого были сформированы две выборки, куда были включены полногеномные данные *S. pneumoniae*, принадлежащих серогруппам 15 и 11, из России и других регионов мира.

Анализ *S. pneumoniae* серогруппы 15

В исследование включены полногеномные данные 45 изолятов пневмококка серогруппы 15, в том числе 32 изолятов из различных городов России, а также 13 изолятов из других регионов мира (табл. 1). Среди выделенных в России изолятов серогруппы 15 в России к серотипу 15В относились 15 (46,9%) изолятов, к 15С — 12 (37,5%), к 15F — 3 (9,4%), к 15А — 2 (6,3%). Представители серотипов 15В/С ассоциировались с 3 распространёнными ST (ST-1025, ST-199, ST-1262, из которых только ST-199 не встречается в России), а также с редкими ST. Серотипы 15А/Ф ассоциировались преимущественно с ST-63. Для изолятов ST-1025 были характерны преимущественное выделение из стерильных локусов (биоматериал выделения — кровь, ликвор) и более частая ассоциация с инвазивными заболеваниями. Большинство изолятов данной серогруппы 15 были чувствительны к антибиотикам разных классов. Детальная характеристика анализируемых изолятов (ST, источник выделения, год выделения, наличие в геномах детерминант резистентности к антибиотикам и т.д.) представлена в табл. 1.

Пангеном изолятов *S. pneumoniae* серогруппы 15 был охарактеризован путём сравнения всех белков («blast-all-all»). У представителей серогруппы 15 доля основной (консервативной) части генома составила 59,8% — 1286 генов присутствовали во всех геномах анализируемой выборки (рис. 1). В популяции серогруппы 15 было идентифицировано 2097 кластеров ортологов, наиболее многочисленный кластер был представлен 296 белками. Пангеном изолятов пневмококка серогруппы 15 относится к «закрытому пангеному» (значение индекса альфа > 1), и его размер приближается к постоянному по мере использования большего числа геномов («закон Хипса») [14]. Это может свидетельствовать о достигшем насыщения разнообразии геномов представителей серогруппы 15, вне зависимости от временного периода и географического региона выделения изолятов, а также их принадлежности к генетической линии.

Все представители генетической линии СС-1025 ассоциируются с гомогенным по составу кластером дендрограммы, описывающей взаимосвязь между штаммами на основании анализа пангенома и учитывающей как наличие или отсутствие, так и гомологию имеющихся аминокислотных последо-

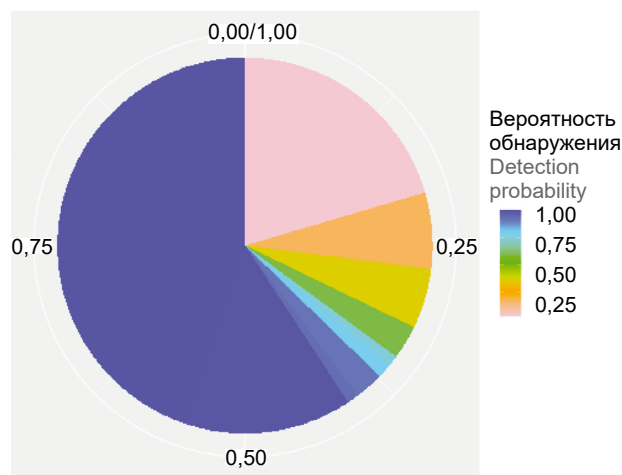


Рис. 1. Распределение семейств генов пангенома штаммов *S. pneumoniae* серогруппы 15.

Цвет сектора отражает вероятность идентификации генного семейства в геномах изолятов. Синим цветом показаны высококонсервативные (ядерные) генные семейства. Цветной вариант рисунка см. на сайте журнала.

Fig. 1. Distribution of gene families of the pan-genome of *S. pneumoniae* serogroup 15 strains.

The color of the sector reflects the probability of identification of the gene family in the genomes of isolates. The blue color shows highly conservative («core genome») gene families. For a color version of the picture, see the journal's website.

вательностей (рис. 2). Все представители ST-1025 содержат в своих геномах уникальный оперон, кодирующий компоненты транспортера олигопептидов. Кроме того, представители ST-1025 содержат в своих геномах уникальный оперон, кодирующий компоненты фруктозоспецифичной фосфотрансферазной транспортной системы (PTS). Изоляты ST-1025 содержат также уникальные варианты гидролазы, транспортеров ионов железа и ген цинковой металлопротеазы ZmpC (табл. 2).

Наряду с ST-1025 распространённость ST-1262 может быть связана с наличием в геномах её представителей факторов, обеспечивающих более высокую адаптируемость к стрессовым условиям (табл. 3).

Анализ *S. pneumoniae* серогруппы 11

Выборка представителей серогруппы 11 включала полногеномные данные 15 изолятов из различных городов России, а также 23 изолятов из других регионов мира. Среди выделенных в России изолятов серогруппы 11 в России к серотипу 11А относились 13 (86,7%) изолятов, к серотипу 11D — 2 (13,3%). Представители серогруппы 11 ассоциировались с двумя распространёнными генетическими линиями: СС-62 (циркулирует повсеместно) и СС-1012, а также с редкими ST. Изоляты, принадлежащие СС-62, были выделены преимущественно из носоглотки. Изоляты, принадлежащие СС-1012, часто ассоциировались с инвазивными заболеваниями (биоматериал выделения — ликвор). Большин-

Таблица 1. Характеристика штаммов серогруппы 15**Table 1.** Characteristics of serogroup 15 strains

Образец Sample	PubMLST ID / ENA_accession	Страна Country	Регион Region	Год выделения Year of isolation	Серотип Serotype	ST	Возраст пациента, лет Patient's age, years	Диагноз Diagnosis	Источник выделения Source of isolation	Пенициллин Penicillin	Эритромицин Erythromycin	Тетрациклин Tetracycline	Хлорамфеникол Chloramphenicol	Ко-тримоксазол Co-trimoxazole
PEGAS-5-1079	51104 [10, 12]	R	Ярославль Yaroslavl	2016	15B	1025	11	MNG CSF	S S S S R					
PEGAS-5-1659	51117 [10, 12]	R	Ярославль Yaroslavl	2017	15B	1262	2	MNG CSF	S S S S S					
PEGAS-2019-106	73021 [10, 12]	R	Ярославль Yaroslavl	2019	15B	1262	1	MNG CSF	S S S S S					
PEGAS-2019-269	73025 [10, 12]	R	Ярославль Yaroslavl	2019	15B	1025	0,2	MNG CSF	S S S S R					
PEGAS-2019-73	142552 [10, 12]	R	Ярославль Yaroslavl	2019	15B	1025	78	PN CSF	S S S S R					
PEGAS-5-638	51109 [10, 12]	R	Смоленск Smolensk	2016	15B	1025	50	MNG CSF	S S S S R					
PEGAS-2019-184	73023 [10, 12]	R	Смоленск Smolensk	2019	15F	6202	52	MNG CSF	S S S S S					
PEGAS-2019-237	142578 [10, 12]	R	Смоленск Smolensk	2019	15C	1025	63	PN SP	S S S S R					
PEGAS-2020-201	142624 [10, 12]	R	Южно-Сахалинск Yuzhno-Sakhalinsk	2020	15C	1025	23	PN SP	S S S S R					
PEGAS-2019-213	142574 [10, 12]	R	Южно-Сахалинск Yuzhno-Sakhalinsk	2019	15C	16380	2	PN SP	R S S S R					
PEGAS-2020-146	142613 [10, 12]	R	Киров Kirov	2020	15C	1262	1	PN SP	S S S S S					
PEGAS-2019-343	142585 [10, 12]	R	Северск Seversk	2019	15A	12518	55	PN SP	S S S S S					
PEGAS-2019-347	142587 [10, 12]	R	Северск Seversk	2019	15C	16349	70	PN SP	S S S S R					
PEGAS-2019-373	142591 [10, 12]	R	Томск Tomsk	2019	15C	1262	3	PN SP	S S S S S					
PEGAS-2019-375	142593 [10, 12]	R	Томск Tomsk	2019	15B	1262	86	PN SP	S S S S S					
PEGAS-2019-390	142595 [10, 12]	R	Томск Tomsk	2019	15C	1262	61	PN SP	S S S S S					
PEGAS-2020-229	142634 [10, 12]	R	Тольятти Tolyatti	2020	15F	16421	45	PN SP	S S S S S					
ST_12518_2	ERR1788193	R	Москва Moscow	2014	15A	12518	5	PHR NPS	S S S S S					
ST_3201_3	ERR1788219	R	Москва Moscow	2015	15B	3201	2	– NPS.	R S S S R					
ST_1262_2	ERR1788207	R	Москва Moscow	2013	15B	1262	5	– NPS	S S S S R					
ST_1262_3	ERR1788225	R	Москва Moscow	2015	15B	1262	5	PHR NPS	S S S S R					
ST_1025_5	ERR1788208	R	Москва Moscow	2014	15C	1025	5	PHR NPS	S S S S R					
ST_3557_1	ERR1788206	R	Москва Moscow	2013	15B	3557	2	PHR NPS	R S R S R					

Окончание табл. 1 | End of the Table 1

Образец Sample	PubMLST ID / ENA_accession	Страна Country	Регион Region	Год выделения Year of isolation	Серотип Serotype	ST	Возраст пациента, лет Patient's age, years	Диагноз Diagnosis	Источник выделения Source of isolation	Пенициллин Penicillin	Эритромицин Erythromycin	Тетрациклин Tetracycline	Хлорамфеникол Chloramphenicol	Ко-тримоксазол Co-trimoxazole
6_2F1	PRJNA1154393	R	Москва Moscow	2011	15F	6202		–	NPS	S	S	S	S	S
27_Kz	PRJNA971376	R	Казань Kazan	2020	15C	1025	3	–	NPS	S	S	S	S	R
12001	PRJNA1076328	R	Санкт-Петербург Saint-Petersburg	2016	15B	1262	3	–	NPS	S	S	S	S	S
12456	PRJNA1076328	R	Санкт-Петербург Saint-Petersburg	2016	15B	1025	5	–	NPS	S	S	S	S	R
108	PRJNA1154393	R	Санкт-Петербург Saint-Petersburg	2021	15C	1349		MNG	CSF	R	S	S	S	R
76_B	PRJNA1076328	R	Санкт-Петербург Saint-Petersburg	2021	15B	1025	44	MNG	CSF	S	S	S	S	R
137_B	PRJNA1076328	R	Санкт-Петербург Saint-Petersburg	2022	15C	1025	38	MNG	CSF	S	S	S	S	R
138_B	PRJNA1076328	R	Санкт-Петербург Saint-Petersburg	2022	15C	1025	38	MNG	CSF	S	S	S	S	R
336_B	PRJNA1076328	R	Санкт-Петербург Saint-Petersburg	2022	15B	Unkn_21	64	MNG	CSF	S	S	S	S	S
ST_63_3	ERR065297	U	Массачусетс Massachusetts	2004	15A	63	6	–	NPS	R	R	S	R	S
ST_63_4	ERR068032	U	Массачусетс Massachusetts	2004	15A	63	6	–	NPS	R	R	S	R	R
ST_63_5	ERR069724	U	Массачусетс Massachusetts	2004	15A	63	6	–	NPS	R	R	S	R	S
ST_199_1	ERR069751	U	Массачусетс Massachusetts	2001	15C	199	2	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_199_2	ERR069691	U	Массачусетс Massachusetts	2004	15B	199	2	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_199_3	ERR069774	U	Массачусетс Massachusetts	2001	15C	199	2	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_199_4	ERR065975	U	Массачусетс Massachusetts	2001	15B	199	2	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_199_11	ERR540653	I	Рейкьявик Reykjavik	2010	15B	199	2	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_199_16	ERR755466	I	Рейкьявик Reykjavik	2013	15C	199	2	OM	MEF	S	S	S	S	S
ST_199_17	ERR755326	I	Рейкьявик Reykjavik	2013	15B	199	3	OM	MEF	S	S	S	S	S
ST_199_13	ERR470151	I	Коупавогюр Kouparvogur	2009	15C	199	4	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_199_18	ERR755336	I	Хабнарфьордюр Habnarfjordur	2013	15B	199	2	OM	MEF	S	S	S	S	S
ST_199_21	ERR755384	I	Хабнарфьордюр Habnarfjordur	2014	15C	199	4	–	NPS	S	S	S	S	S

Примечание. MNG — менингит; PN — пневмония; PhR — фарингит; OM — отит среднего уха; CSF — ликвор; BL — кровь; SP — мокрота; NPS — мазок носоглотки; MEF — отделяемое среднего уха; R/S — наличие/отсутствие детерминант резистентности (источник: Прогнозирование устойчивости к противомикробным препаратам в PATRIC и RAST. URL: <https://www.bv-brc.org/job/>).

Note. MNG — meningitis; PN — pneumonia; Phr — pharyngitis; OM — otitis media; CSF — cerebrospinal fluid; SP — sputum; NPS — nasopharyngeal smear; MEF — middle ear fluid; R/S — presence/absence of determinants of resistance (source: Prediction of antimicrobial resistance in PATRIC and RAST, URL: <https://www.bv-brc.org/job/>).

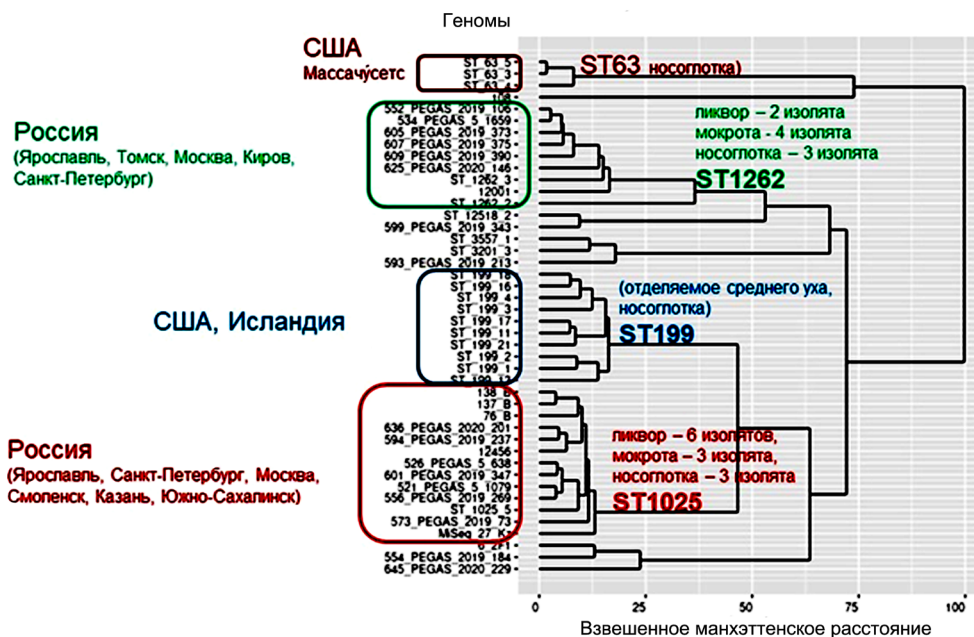


Рис. 2. Дендрограмма, описывающая кластеризацию изолятов *S. pneumoniae* серогруппы 15 по пангеному (наличие/отсутствие и гомология генов) R micropan.

Fig. 2. A dendrogram describing the clustering of *S. pneumoniae* isolates of serogroup 15 by pan-genome R micropan analysis (presence/absence and gene homology).

ство изолятов серогруппы 11 были чувствительны к антибиотикам разных классов (табл. 4).

Анализ пангенома изолятов *S. pneumoniae* серогруппы 11 показал более высокую степень гетерогенности геномов данной группы (рис. 3). Доля основной (консервативной) части генома составила 36% — 820 генов присутствовали во всех геномах анализируемой выборки (рис. 3). В популяции серогруппы 11 было идентифицировано 1864 кластера ортологов, наиболее многочисленный кластер был представлен 191 белком. Пангеном изолятов пневмококка серогруппы 11 относился к «открытому пангеному» — значение индекса альфа < 1 (0,82), т. е. размер пангенома данной группы, должно расти по мере использования большего числа геномов. Это может свидетельствовать о большей вариабельности геномов данной группы и большем разнообразии «дополнительной» части генома представителей серогруппы 11 (рис. 4), их потенциально большей адаптивности. Данный факт согласуется с высокой распространённостью СС-62 в разных регионах мира в разные периоды.

Представители СС-62 содержат в своих геномах уникальный оперон, кодирующий синтез бактерицина, участвующего в межвидовой конкуренции, компоненты транспортера олигопептидов и флавинредуктазаподобный белок, способствующий адгезии и защищающий бактерию от окислительного стресса, что повышает вирулентность микроорганизма (табл. 5). Также все представители СС-62 содержат оперон процессинга фукозы и PsaA (компонент АТФ-связывающего кассетного транспорте-

ра, импортирующего ионы марганца и также являющегося адгезином).

Представители генетической линии СС-1012 менее распространены, также в основном ассоциируются с серотипом 11А, но выделяются преимущественно из ликвора и мокроты. Из уникальных осо-

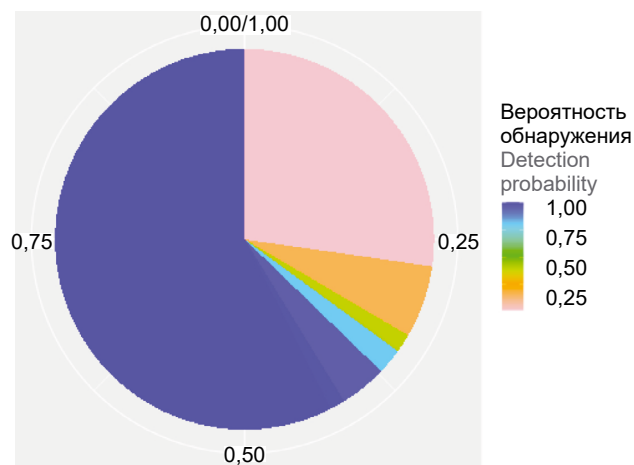


Рис. 3. Распределение семейств генов пангенома штаммов *S. pneumoniae* серогруппы 11.

Цвет сектора отражает вероятность идентификации генного семейства в геномах изолятов. Синим цветом показаны высококонсервативные (ядерные) гены семейства. Цветной вариант рисунка см. на сайте журнала.

Fig. 3. Distribution of gene families of the pan-genome of *S. pneumoniae* serogroup 11 strains.

The color of the sector reflects the probability of identification of the gene family in the genomes of isolates. The blue color shows highly conservative («core genome») gene families.

For a color version of the picture, see the journal's website.

Таблица 2. Уникальные белки представителей генетической линии CC-1025*
Table 2. Unique proteins of the CC-1025 genetic lineage representatives*

ID последовательности Sequence ID	Гомология с известными белками, % Homology with known proteins, %	Название белка Protein name	Предполагаемая функция Proposed function
27_Kz_seq27	100	ABC транспортер железа (III), пермеаза ABC iron (III) transporter, permease	Транспорт ионов железа III+ Transport of iron III+ ions
27_Kz_seq161	96	ABC транспортер, пермеаза ABC transporter, permease	Транспорт ионов железа III+ Transport of iron III+ ions
27_Kz_seq266	97,9	Мембранная сукцинат-пермеаза DctA, симпортер натрия Membrane succinate permease DctA, sodium symporter	Транспорт дикарбоновых кислот Transport of dicarboxylic acids
27_Kz_seq792	100	Компонент IIC PTS Component IIC of the phosphotransferase system (PTS)	Протеин-N(PI)-фосфогистидин-фрукто-PTS Protein-N(PI)-phosphohistidine-fructose-PTS
27_Kz_seq793	99	Компонент IIB PTS Component IIB of the PTS	
27_Kz_seq794	100	Компонент IIA PTS Component IIA of the PTS	
27_Kz_seq795	100	Гипотетический азот-регуляторный белок IIA системы PTS Hypothetical nitrogen regulatory protein IIA of the PTS system	
27_Kz_seq796	99,9	Гипотетический антитерминатор транскрипции семейства BglG A hypothetical transcription antiterminator of the BglG family	
27_Kz_seq1007	100	Высокоаффинная пермеаза Fe ²⁺ /Pb ²⁺ High affinity permease Fe ²⁺ /Pb ²⁺	Транспорт ионов железа Ferrum ions transport
27_Kz_seq1008	99,7	Пероксидаза DyP-типа (IPR006314) DyP-type peroxidase (IPR006314)	Белки DyP имеют характеристики, отличающие их от других пероксидаз: широкая субстратная специфичность, отсутствие гомологии с большинством других пероксидаз, способность хорошо функционировать в условиях более низких значений pH DyP proteins have characteristics that distinguish them from other peroxidases: broad substrate specificity, lack of homology with most other peroxidases, and the ability to function well under conditions of lower pH values
27_Kz_seq1359	99,9	Цинкзависимая металлопротеиназа ZmpC Zinc-dependent metalloproteinase ZmpC	Расщепляет и активирует матричную металлопротеиназу-9 человека. Роль в вирулентности и патогенности пневмококка в легких Cleaves and activates human matrix metalloproteinase-9. The role in the virulence and pathogenicity of pneumococcus in the lungs
27_Kz_seq1361	100	Гипотетическая ацетилтрансфераза Hypothetical acetyltransferase	Неизвестна Unknown
27_Kz_seq1489	100	Эпимераза N-ацетилнейраминной кислоты N-acetylneuramic acid epimerase	Мутаротация сиаловых кислот. Присутствие сиаловых кислот в элементах клеточной поверхности бактерий помогает им уклоняться от врожденного иммунного ответа хозяина Mutarotation of sialic acids. The presence of sialic acids in the elements of the bacterial cell surface helps them evade the innate immune response of the host
27_Kz_seq1490	100	Субстрат-связывающая субъединица AppA, компонент ABC-транспортера олигопептидов Substrate-binding subunit AppA, ABC component of the oligopeptide transporter	Транспорт олигопептидов Transport of oligopeptides
27_Kz_seq1494	99,8	Гипотетическая гликозилгидролаза семейства 32 Hypothetical glycosylhydrolase family 32	Неизвестна Unknown

Примечание. *Данные белки кодируются в геномах 13 изолятов: 556_PEGAS_2019_269, 573_PEGAS_2019_73, 594_PEGAS_2019_237, 601_PEGAS_2019_347, 636_PEGAS_2020_201, 76_B, MiSeq_27_Kz, ST_1025_5, 12456, 137_B, 138_B, 521_PEGAS_5_1079, 526_PEGAS_5_638)

Note. *These proteins are encoded in the genomes of 13 isolates: 556_PEGAS_2019_269, 573_PEGAS_2019_73, 594_PEGAS_2019_237, 601_PEGAS_2019_347, 636_PEGAS_2020_201, 76_B, MiSeq_27_Kz, ST_1025_5, 12456, 137_B, 138_B, 521_PEGAS_5_1079, 526_PEGAS_5_638)

Таблица 3. Уникальные белки представителей генетической линии CC-1262***Table 3.** Unique proteins of the CC-1262 genetic lineage representatives*

ID последовательности Sequence ID	Гомология с известными белками, % Homology with known proteins, %	Название белка Protein name	Предполагаемая функция Proposed function
552_PEGAS_2019_106_seq440	100	Белок фагового шока PspC Phage shock protein PspC	Целостность внутренней мембраны в ответ на экстрацитоплазматические стрессовые условия The integrity of the inner membrane in response to extracytoplasmic stress conditions
552_PEGAS_2019_106_seq590	100	Гипотетический белок сателлитного фага Satellite phage hypothetical protein (<i>Streptococcus satellite phage Javan725</i>)	Компонент профага Prophage component
552_PEGAS_2019_106_seq591	100	Гипотетический белок сателлитного фага Satellite phage hypothetical protein (<i>Streptococcus satellite phage Javan296</i>)	Компонент профага Prophage component
552_PEGAS_2019_106_seq592	100	Фаговый белок, содержащий С-концевой 1 домен праймазы Primase C-terminal 1 domain-containing protein	Компонент профага Prophage component
552_PEGAS_2019_106_seq624	100	Метионин-тРНК-лигаза Methionine tRNA ligase	Инициация синтеза белка The initiation of protein synthesis
552_PEGAS_2019_106_seq686	98,6	АВС транспортер, АТФ-связывающая субъединица, glnQ ABC transporter, ATP-binding subunit, GlnQ	Транспорт глутамина Transport of glutamine
552_PEGAS_2019_106_seq915	99	Хеликаза суперсемейства II Superfamily 2 helicase	Неизвестна Unknown
552_PEGAS_2019_106_seq1038	99,4	О-ацетилгомосерин-аминокарбоксыпропилтрансфераза O-acetylhomoserine aminocarboxypropyltransferase	Синтез метионина Synthesis of methionine
552_PEGAS_2019_106_seq1080	91	АТФаза AAA AAA ATPase	Гидролиз АТФ ATP hydrolysis
552_PEGAS_2019_106_seq1081	85	Сериновая протеаза Serine protease	Предположительно, сигнальная функция Possible signaling function
552_PEGAS_2019_106_seq1112	100	Гипотетический транспортер эффлюкса макролидов Hypothetical macrolide efflux transporter	Предположительно, эффлюкс макролидов Possible macrolide efflux
552_PEGAS_2019_106_seq1113	100	Гипотетический белок Hypothetical protein	Неизвестна Unknown
552_PEGAS_2019_106_seq1114	100	Пиридоксаль-зависимая декарбоксилаза группы I (расщепляет Orn/Lys/Arg и глицин) Group I pyridoxal-dependent decarboxylase (cleaves Orn/Lys/Arg and glycine)	Метаболизм аминокислот Amino acid metabolism

Примечание. *Данные белки кодируются в геномах 10 изолятов: PEGAS_2019_106, 605_PEGAS_2019_373, 607_PEGAS_2019_375, 609_PEGAS_2019_390, 12001, 625_PEGAS_2020_146, ST_1262_2, ST_1262_3, 534_PEGAS_5_1659, 552_PEGAS_2019_106

Note. *These proteins are encoded in the genomes of 10 isolates: PEGAS_2019_106, 605_PEGAS_2019_373, 607_PEGAS_2019_375, 609_PEGAS_2019_390, 12001, 625_PEGAS_2020_146, ST_1262_2, ST_1262_3, 534_PEGAS_5_1659, 552_PEGAS_2019_106

бенностей данной генетической линии можно отметить наличие сателлитного профага *Streptococcus satellite phage Javan359*. Представители CC-1012 имеют уникальный для данной генетической линии бактериоцин. Также изоляты CC-1012 могут иметь особенности синтеза аминокислот и биосинтеза рибофлавина, что может иметь отношение к вирулентности, но данное предположение нуждается в проверке в дополнительных исследованиях.

Обсуждение

С момента введения в национальные календари иммунизации ПКВ13 стали появляться сообщения о росте циркуляции *S. pneumoniae* серогруппы 15, не охватываемой ПКВ13 [16–18]. 15В — один из серотипов, который в настоящее время ассоциируется с относительно высокими показателями летальности [19–22], развитием инвазивных форм, в частности, менингита [23, 24]. По недавно опубли-

Таблица 4. Характеристика штаммов серогруппы 11
Table 4. Characteristics of serogroup 11 strains

Образец Sample	PubMLST / ENA_accession number	Страна Country	Регион Region	Год выделения Isolation year	Серотип Serotype	ST	Возраст пациента, лет Patient's age, years	Диагноз Diagnosis	Источник выделения Source of isolation	Пенициллин Penicillin	Эритромицин Erythromycin	Тетрациклин Tetracycline	Хлорамфеникол Chloramphenicol	Ко-тримоксазол Co-trimoxazole
PEGAS-2019-401	73030 [10, 12]	Россия Russia	Краснодар Krasnodar	2019	11A	1012	61	MNG	CSF	S	S	S	S	S
PEGAS-2019-64	142555 [10, 12]	Россия Russia	Ярославль Yaroslavl	2019	11A	156	66	PN	SP	S	S	R	R	R
PEGAS-2019-113	142568 [10, 12]	Россия Russia	Смоленск Smolensk	2019	11A	1012	57	PN	SP	S	S	S	S	S
PEGAS-2019-344	142586 [10, 12]	Россия Russia	Северск Seversk	2019	11D	62	67	PN	SP	S	S	S	S	S
PEGAS-2019-349	142588 [10, 12]	Россия Russia	Северск Seversk	2019	11A	1012	85	PN	SP	S	S	S	S	S
PEGAS-2020-149	142616 [10, 12]	Россия Russia	Киров Kirov	2020	11A	6191	62	PN	SP	S	S	S	S	R
PEGAS-2020-150	142617 [10, 12]	Россия Russia	Киров Kirov	2020	11A	62	1	PN	SP	S	S	S	S	S
PEGAS-2020-226	142631 [10, 12]	Россия Russia	Тольятти Tolyatti	2020	11A	62	34	PN	SP	S	S	S	S	S
PEGAS-2019-114	142560 [10, 12]	Россия Russia	Москва Moscow	2019	11A	1012	72	PN	SP	S	S	S	S	S
ST_62_27	ERR1788222	Россия Russia	Москва Moscow	2012	11A	62	5	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_62_28	ERR1788215	Россия Russia	Москва Moscow	2014	11A	62	5	PhR	NPS	S	S	S	S	S
ST_1012_3	ERR1788171	Россия Russia	Москва Moscow	2013	11A	1012	3	MNG	CSF	S	S	S	S	S
ST_1012_4	ERR1788140	Россия Russia	Москва Moscow	2011	11A	1012	3	MNG	CSF	S	S	S	S	S
105_Kz	PRJNA1009429	Россия Russia	Казань Kazan	2020	11D	62	4	–	NPS	S	S	S	S	S
25_B	PRJNA1076328	Россия Russia	Санкт-Петербург Saint Petersburg	2021	11A	1050	60	–	BL	S	S	S	S	S
ST_62_3	ERR069801	США USA	Массачусетс Massachusetts	2001	11A	62	2	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_62_4	ERR069822	США USA	Массачусетс Massachusetts	2001	11A	62	3	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_62_5	ERR065964	США USA	Массачусетс Massachusetts	2001	11A	62	3	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_62_6	ERR069804	США USA	Массачусетс Massachusetts	2001	11A	62	6	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_62_7	ERR065326	США USA	Массачусетс Massachusetts	2004	11A	62	2	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_62_8	ERR069707	США USA	Массачусетс Massachusetts	2004	11A	62	2	–	NPS	S	S	S	S	S
ST_62_9	ERR069727	США USA	Массачусетс Massachusetts	2004	11A	62	2	–	NPS	S	S	S	S	S

Окончание табл. 4 | End of the Table 4

Образец Sample	PubMLST / ENA_accession number	Страна Country	Регион Region	Год выделения Isolation year	Серотип Serotype	ST	Возраст пациента, лет Patient's age, years	Диагноз Diagnosis	Источник выделения Source of isolation	Пенициллин Penicillin	Эритромицин Erythromycin	Тетрациклин Tetracycline	Хлорамфеникол Chloramphenicol	Ко-тримоксазол Co-trimoxazole
ST_62_10	ERR065310	США USA	Массачусетс Massachusetts	2004	11A	62	–	NPS	S	S	S	S	S	
ST_62_11	ERR124268	США USA	Массачусетс Massachusetts	2007	11A	62	6	–	NPS	S	S	S	S	
ST_62_12	ERR129079	США USA	Массачусетс Massachusetts	2007	11A	62	6	–	NPS	S	S	S	S	
ST_62_13	ERR129211	США USA	Массачусетс Massachusetts	2007	11A	62	6	–	NPS	S	S	S	S	
ST_62_14	ERR129131	США USA	Массачусетс Massachusetts	2007	11A	62	6	–	NPS	S	S	S	S	
ST_62_15	ERR470324	Исландия Iceland	Рейкьявик Reykjavik	2009	11A	62	3	–	NPS	S	S	S	S	
ST_62_16	ERR449847	Исландия Iceland	Рейкьявик Reykjavik	2009	11A	62	65	PN	NA	S	S	NA	NA	
ST_62_20	ERR470201	Исландия Iceland	Рейкьявик Reykjavik	2010	11A	62	11	OM	MEF	S	S	S	S	
ST_62_21	ERR540645	Исландия Iceland	Рейкьявик Reykjavik	2010	11A	62	5	–	NPS	S	S	S	S	
ST_62_22	ERR540483	Исландия Iceland	Рейкьявик Reykjavik	2010	11A	62	60	PN	NA	S	S	S	S	
ST_62_17	ERR470261	Исландия Iceland	Мосфедльсбайр Mosfellsbaer	2009	11A	62	17	OM	MEF	S	S	S	S	
ST_62_18	ERR449827	Исландия Iceland	Мосфедльсбайр Mosfellsbaer	2009	11A	62	42	PN	NA	S	S	S	S	
ST_62_19	ERR470192	Исландия Iceland	Сельфосс Selfoss	2010	11A	62	1	OM	MEF	S	S	S	S	
ST_62_23	ERR755493	Исландия Iceland	Хабнарфьордюр Hafnarfjörður	2014	11A	62	5	–	NPS	S	S	S	S	
ST_62_24	ERR755501	Исландия Iceland	Хабнарфьордюр Hafnarfjörður	2014	11A	62	5	–	NPS	S	S	S	S	
ST_62_26	ERR755548	Исландия Iceland	Коупавогур Kopavogur	2014	11A	62	6	–	NPS	S	S	S	S	

Примечание. MNG — менингит; PN — пневмония; PhR — фарингит; OM — отит среднего уха; CSF — ликвор; BL — кровь; SP — мокрота; NPS — мазок носоглотки; MEF — отделяемое среднего уха; R/S — наличие/отсутствие детерминант резистентности (источник: Прогнозирование устойчивости к противомикробным препаратам в PATRIC и RAST. URL: <https://www.bv-brc.org/job>).

Note. MNG — meningitis; PN — pneumonia; Phr — pharyngitis; OM — otitis media; CSF — cerebrospinal fluid; SP — sputum; NPS — nasopharyngeal smear; MEF — middle ear fluid; R/S — presence/absence of determinants of resistance (source: Prediction of antimicrobial resistance in PATRIC and RAST. URL: <https://www.bv-brc.org/job>).

кованным результатам китайских исследователей, наиболее распространённой циркулирующей среди детей в Китае является 15 серогруппа пневмококков [25]. В России также наблюдается тенденция роста этой серогруппы [5, 6]. По результатам проведённого нами анализа две наиболее распростра-

нённые генетические линии серогруппы 15, циркулирующие в России, — CC-1025 и CC-1262 — часто ассоциируются с инвазивными заболеваниями. Изоляты CC-1025 и CC-1262 представлены серотипами 15B/C и имеют генетические детерминанты, которые могут способствовать лучшей адаптации и

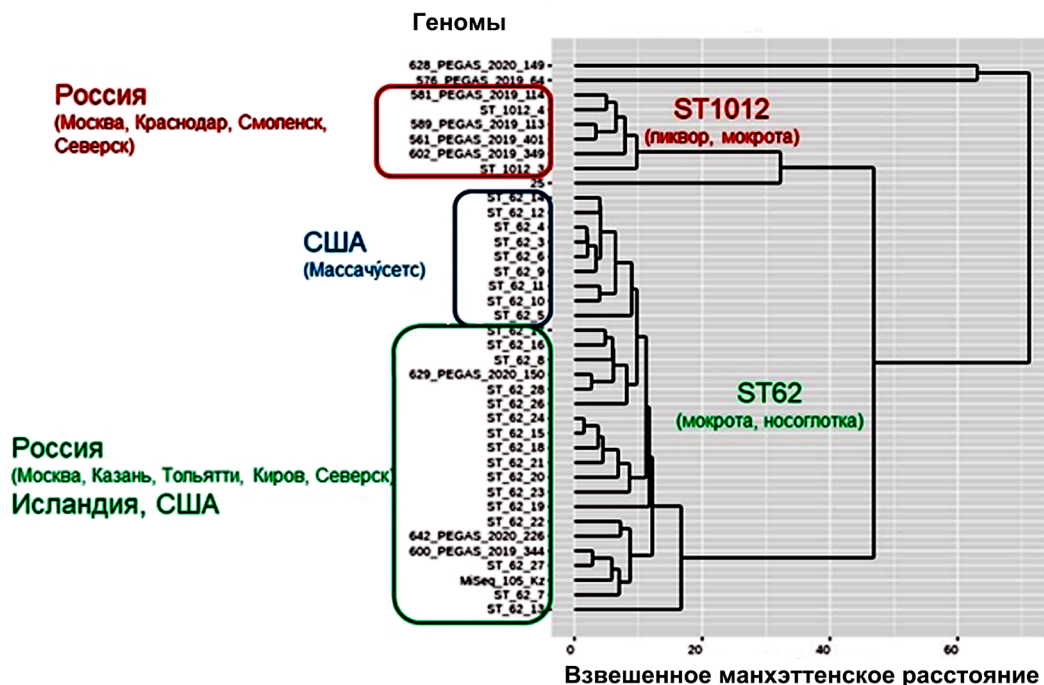


Рис. 4. Дендрограмма, описывающая кластеризацию изолятов *S. pneumoniae* серогруппы 11 по пангеному (наличие/отсутствие и гомология генов) R micropan.

Fig. 4. Dendrogram describing the clustering of *S. pneumoniae* serogroup 11 isolates by pan-genome R micropan analysis (presence/absence and gene homology).

успешности данных генетических линий и потенциально могут ассоциироваться с вирулентностью (табл. 2, 3). В частности, транспортеры олигопептидов, помимо транспорта бактериоцинов и хемокинов, могут быть связаны с регуляцией экспрессии холинсвязывающих белков [26, 27]. Уникальный вариант фруктозоспецифичной PTS также может вносить вклад в селекцию представителей ST-1025 у носителей на фоне вакцинации за счёт энергетических преимуществ. Цинковая металлопротеаза ZmpC специфически расщепляет и активирует матриксную металлопротеиназу-9 человека, которая, в свою очередь, разрушает компоненты внеклеточного матрикса [28]. Все штаммы ST-1262 содержат ген, кодирующий пептид, обуславливающий устойчивость к abortивной фаговой инфекции (табл. 3). В составе сателлитного профага у всех представителей ST-1262 есть ген, кодирующий белок фагового шока, обеспечивающий целостность внутренней мембраны клетки в ответ на экстрацитоплазматические стрессовые условия. Возможно, представители ST-1262 имеют особенности метаболизма аминокислот (табл. 3), но данное предположение нуждается в проверке.

Таким образом, в России циркулируют потенциально вирулентные пневмококки серотипов 15B и 15C. Ранее было установлено, что структурное различие между данными серотипами основано на вариациях короткого tandemного повтора нуклеотидов тимин-аденин в гене O-ацетилтрансферазы

wciZ, обеспечивающих взаимное «переключение» серотипов 15B и 15C [29, 30]. Перекрёстная иммуногенность серотипов 15B/C с образованием устойчивых титров антител была подтверждена в ранее проведённых исследованиях [30, 31]. Таким образом, вакцины, содержащие серотип 15B, потенциально смогут ограничить распространение вирулентных генетических линий, ассоциированных с серотипами 15B/C в популяции пневмококка.

По результатам различных исследований, в настоящее время в мире распространяется серотип 11A [32] — как при пневмококковом носительстве [33], так и при инвазивных заболеваниях [34]. Согласно А.В. Brueggemann и соавт., серотип 11A в большей степени ассоциируется с бессимптомным носительством, чем с инвазивными заболеваниями, что указывает на относительно низкий вирулентный потенциал [35]. Однако некоторые штаммы серотипа 11A, относящиеся к ST-62, способны вызывать инвазивные заболевания с высокой летальностью [36]. Согласно результатам нашего исследования, представители ST-62 содержат в своих геномах локусы, потенциально способные повышать адаптательность и вирулентность микроорганизма: локусы, кодирующие синтез бактериоцинов, транспортеров, в том числе олигопептидов, белков адгезии, флавинредуктазы, факторов защиты от окислительного стресса, регуляторов активации комплемента, регуляторов транскрипции (табл. 5). Наши результаты подтверждаются данными предыдущих

Таблица 5. Уникальные белки представителей генетических линий серогруппы 11
Table 5. Unique proteins of the serogroup 11 genetic lineages representatives

ID последовательности Sequence ID	Гомология с известными белками, % Homology with known proteins, %	Название белка Protein name	Предполагаемая функция Proposed function
СС-62* — 29 изолятов isolates			
GID11_seq178	100	Бактериоцин Bacteriocin	Межвидовая конкуренция Interspecific competition
GID11_seq180	87,5	Транспозаза ISSmu1 Transposase ISSmu1	Компонент профара Prophage component
GID11_seq303	98,8	Об-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза O6-methylguanine DNA methyltransferase	Репарация ДНК. Поддержание стабильности генома DNA repair. Maintaining the stability of the genome
GID11_seq357	100	L-фукулозо-фосфатальдолаза L-fuculose phosphate aldolase	Метаболизм фукозы Metabolism of fucose
GID11_seq358	99,3	Белок семейства транспортных белков RbsD/FucU RbsD/FucU family transport protein	
GID11_seq359	98,6	Компонент IIA PTS Enzyme IIA component of the phosphotransferase system (PTS)	
GID11_seq363	99,6	Гипотетический белок Hypothetical protein	Неизвестна Unknown
GID11_seq364	99,8	Белок, содержащий домен F5/8 типа C F5/8 type C domain-containing protein	Может действовать как защитный агент. Возможна регуляция активации комплемента (лектиновый путь) It can act as a protective agent. Possibly, regulation of complement activation (lectin pathway)
GID11_seq373	56	Белок, подобный пневмококковому поверхностному белку А Pneumococcal surface protein A-like protein	Адгезин и компонент АТФ-связывающего касетного транспортера, импортирующего ионы марганца. Возможно, что PsaA, как и многие другие факторы вирулентности, выполняет две функции во время инфекции: прямого адгезина и участие в поглощении марганца An adhesive and a component of an ATP-binding cassette conveyor importing manganese ions. It is possible that PsaA, like many other virulence factors, performs two functions during infection: direct adhesion and participation in the absorption of manganese
GID11_seq740	97,7	Гипотетическая хеликаза Hypothetical helicase	Неизвестна Unknown
GID11_seq974	51,8	Компонент ABC-транспортной системы, пермеаза ABC transporter, permease	Транспорт Transport
GID11_seq975	52,7	ABC транспортер, АТФ-связывающая субъединица ABC transporter, ATP-binding subunit	
GID11_seq976	43,3	Регулятор транскрипции, белок семейства ArsR ArsR family transcriptional regulator	
GID11_seq1078	96,9	Хеликазы ДНК или РНК суперсемейства II Superfamily II group DNA or RNA helicases	Возможна регуляция экспрессии Possible regulation of expression
GID11_seq1083	100	Флавинредуктазаподобный доменсодержащий белок Flavin reductase-like domain-containing protein	Флавинредуктаза присутствует на поверхности пневмококков. Защита от окислительного стресса, адгезии Flavin reductase is present on the surface of pneumococci. It promotes virulence by protecting against oxidative stress and mediating adhesion
GID11_seq1103	95,5	Регулятор транскрипции BlpS Transcription regulator BlpS	Домен, связывающийся с ДНК The domain binding to DNA
GID11_seq1185	28,8	Компонент ABC-транспортной системы антимикробных пептидов Component of the antimicrobial peptides ABC transport system	Межвидовая конкуренция Interspecific competition

ID последовательности Sequence ID	Гомология с известными белками, % Homology with known proteins, %	Название белка Protein name	Предполагаемая функция Proposed function
GID11_seq1585	28	Белок, содержащий домен HECT HECT domain containing protein	Убиквитин-протеиновые лигазы — утилизация белков Ubiquitin-protein ligases — protein utilization
СС-1012** — 6 изолятов isolates			
GID12_seq99	100	Гуанозинтрифосфат-циклогидролаза Guanosine triphosphate cyclohydrolase	Катализируют раскрытие имидазольного кольца гуанозинтрифосфата. Обязательный этап биосинтеза множества коферментов (рибофлавин и фолат), оснований тРНК The opening of the imidazole ring of guanosine triphosphate is catalyzed. An obligatory stage of biosynthesis of a variety of coenzymes (riboflavin and folate), tRNA bases
GID12_seq198	100	Гипотетический белок эффлюкса макролидов Hypothetical macrolide efflux protein	Предположительно, эффлюкс макролидов Possible macrolide efflux
GID12_seq199	99,8	Гипотетический белок Hypothetical protein	Неизвестна Unknown
GID12_seq200	100	Пиридоксаль-зависимая декарбоксилаза группы I (расщепляет Orn/Lys/Arg и глицин) Group I pyridoxal-dependent decarboxylase (cleaves Orn/Lys/Arg and glycine)	Метаболизм аминокислот Amino acid metabolism
GID12_seq887	98,3	Транспортный белок системы компетентности Competence system transport protein	Система естественной компетентности Natural competence system
GID12_seq1238	87,9	ДНК-связывающий белок сателлитного фага <i>Streptococcus satellite phage Javan359</i> DNA-binding protein of the satellite phage <i>Streptococcus satellite phage Javan359</i>	Компонент профага Prophage component
GID12_seq1240	100	Гипотетический белок сателлитного профага <i>Streptococcus satellite phage Javan735</i> Hypothetical satellite prophage protein <i>Streptococcus satellite phage Javan735</i>	Компонент профага Prophage component
GID12_seq1279	91,4	Аргининосукцинатсинтаза, ArgG Argininosuccinate synthetase, rgG	Биосинтез аминокислот; биосинтез L-аргинина (L-аргинин из L-орнитина и карбамоилфосфата) Amino acid biosynthesis; L-arginine biosynthesis (L-arginine from L-ornithine and carbamoyl phosphate)
GID12_seq1281	98,4	Бактериоцинподобный пептид Bacteriocin-like peptide	

Примечание. | **Note.** *Группа ST62 | The ST62 group: 642_PEGAS_2020_226, MiSeq_105_Kz, ST_62_10, ST_62_11, ST_62_12, ST_62_13, ST_62_14, ST_62_15, ST_62_16, ST_62_17, ST_62_18, ST_62_19, ST_62_20, ST_62_21, ST_62_22, ST_62_23, ST_62_24, ST_62_26, ST_62_27, ST_62_28, ST_62_3, ST_62_4, ST_62_5, ST_62_6, ST_62_7, ST_62_8, ST_62_9, 600_PEGAS_2019_344, 629_

исследований [37]. Так, исследовательской группой М.А. Higgins и соавт. ранее была показана неспособность *S. pneumoniae* расти на фукозе, несмотря на наличие регуляторных и биохимических механизмов метаболизма фукозы [38]. Предполагают, что путь переработки фукозы *S. pneumoniae* играет неметаболическую роль при взаимодействии этой бактерии с человеком-хозяином. Пневмококковый поверхностный адгезин А (PspA) предотвращает активацию как классического, так и альтернативного пути комплемента за счёт своего взаимодействия с компонентом С3b [39]. PspA также взаимодействует с лактоферрином человека, ингибируя его бак-

терицидное действие [39]. Флавиноредуктаза присутствует на поверхности пневмококков и способствует вирулентности, защищая от окислительного стресса и опосредуя адгезию, а также обеспечивает защиту от пневмококковой инфекции [40]. С возрастом иммунный ответ на данный белок усиливается [40]. Представители СС-62 содержат и другие гипотетические регуляторы активации комплемента, ABC-транспортеры и регуляторы транскрипции. Возможно, наличие большого числа адаптивных факторов позволило генетической линии ST-62, ассоциированной главным образом с серотипом 11А, широко распространиться по всему миру.

В состав серогруппы 11 входят 6 антигенно различных серотипов (11A–11F), имеющих высокоомологичные *cps*-локусы. Структурное различие между серотипами обусловлено либо мутациями в гене *wcjE* (проявляются у серотипов 11A и 11E различиями степени β-галактоза-6-О-ацелирования) [41], либо мутацией *N112S* в гене гликозилтрансферазы *wcrL* (проявляется добавлением у серотипа 11D дополнительного углеводного остатка в повторяющуюся единицу углеводной цепи капсулы) [42]. В исследованиях было показано, что вакцины, содержащие серотип 11A, с большой вероятностью будут ограничивать распространение серотипа 11E, но не серотипов 11B, 11C, 11F, а также не 11D (из-за наличия в его капсуле 2 типов структурных единиц углеводной цепи) [43]. Однако все серотипы, кроме 11A мало распространены, и их включение в будущую вакцину пока не является необходимым.

Несомненно, что специфическая профилактика пневмококковыми вакцинами играет огромную роль в снижении инвазивных форм пневмококковых инфекций как среди детей, так и среди взрослого населения, о чём свидетельствуют многочисленные публикации из различных стран, внедривших в национальные календари эту вакцинацию. Но при этом неоспоримым фактом является возросшая распространённость невакцированных серотипов пневмококков, инвазивный потенциал которых ещё требует уточнения и дополнительных исследований. Одним из путей дальнейшего совершенствования специфической профилактики отдельными авторами предлагается разработка новых вакцин с большой валентностью. Но также нужно учитывать, что структурное сходство между капсульными полисахаридами близкородственных серотипов пневмококков может привести к индукции перекрёстно-реагирующих антител против серотипа, не охватываемого ПКВ, что может обеспечивать дополнительный защитный клинический эффект.

Заключение

Вакцинация против инвазивных вариантов пневмококков сыграла важную роль в распространении невакцированных серотипов, а эпидемические процессы, связанные с их ростом, являются следствием и свидетельством эффективности вакцинации. Серотипспецифичная вакцинация приводит к распространению серотипов, не охватываемых вакцинами, часть из них могут проявлять повышенную вирулентность и/или антимикробную устойчивость. В России среди невакцированных серогрупп распространены 15 и 11. В геномах представителей этих серогрупп детерминант антимикробной резистентности не выявлено. Для каждой из распространённых в России генетических линий, ассоциированных с серогруппами 15 и 11, идентифицированы уникальные в пределах изучаемой серогруппы

детерминанты вирулентности, которые могут способствовать успешности данных линий. Учитывая высокий вирулентный потенциал и распространённость, можно прогнозировать повышение эпидемиологической значимости данных генетических линий в России. В перспективные для России вакцины целесообразно включение серотипов 15B и 11A.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Белозеров Е.С., Буланьков Ю.И., Васильев В.В. и др. *Руководство по инфекционным болезням: Книга 2*. СПб.; 2011. Belozеров E.S., Bulan'kov Yu.I., Vasil'ev V.V., et al. *Handbook of Infectious Diseases: Book 2*. St. Petersburg; 2011. EDN: <https://elibrary.ru/zfzlej>
2. GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Infect. Dis.* 2018;18(11):1191–210. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30310-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30310-4)
3. Daningrat W.O.D., Hafsa A., Ayu I.M., et al. Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in children under five years of age prior to pneumococcal vaccine introduction in Southeast Asia: A systematic review and meta-analysis (2001–2019). *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2022;55(1):6–17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.08.002>
4. Sidorenko S., Rennert W., Lobzin Y., et al. Multicenter study of serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal isolates from healthy children in the Russian Federation after introduction of PCV13 into the National Vaccination Calendar. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2020;96(1):114914. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2019.114914>
5. Сидоренко С.В., Лобзин Ю.В., Реннерт В. и др. Изменения в серотиповом составе *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих среди детей в Российской Федерации, после внедрения 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины. *Журнал инфектологии*. 2023;15(2):6–13. Sidorenko S.V., Lobzin Yu.V., Rennert V., et al. Changes in the serotype composition of *Streptococcus pneumoniae* circulating among children in the Russian Federation after the introduction of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Journal of Infectology*. 2023;15(2):6–13. DOI: <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2023-15-2-6-13> EDN: <https://elibrary.ru/qjgmmp>
6. Исаева Г.Ш., Баязитова Л.Т., Зарипова А.З. и др. Региональные особенности серотипового состава *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от детей-бактерионосителей дошкольного возраста в Республике Татарстан. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2023;22(3):26–35. Isaeva G.Sh., Bayazitova L.T., Zaripova A.Z., et al. Regional features of the serotype composition of *Streptococcus pneumoniae* isolated from bacterial carriers of preschool age in the Republic of Tatarstan. *Epidemiology and Vaccine Prevention*. 2023;22(3):26–35. DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2023-22-3-26-35> EDN: <https://elibrary.ru/avelpt>
7. Исаева Г.Ш., Зарипова А.З., Баязитова Л.Т. и др. Характеристика бактерионосительства *S. pneumoniae* в детской популяции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(1):89–99. Isaeva G.Sh., Zaripova A.Z., Bayazitova L.T., et al. Characteristics of bacterial transmission of *S. pneumoniae* in the pediatric population. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2024;101(1):89–99. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-445> EDN: <https://elibrary.ru/wqbjrf>
8. Оганесян А.Н. *Молекулярно-генетическая характеристика Streptococcus pneumoniae и эпидемиологические аспекты*

- пневмококковых менингитов у детей: Автореф. дисс. М.; 2019. Oganessian A.N. *Molecular genetic characteristics of Streptococcus pneumoniae and epidemiological aspects of pneumococcal meningitis in children*: Diss. Moscow; 2019.
9. Муравьев А.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В. и др. Эпидемиология серотипов *S. pneumoniae*, выделенных у лиц старше 18 лет: здоровых носителей, пациентов с острым средним отитом, внебольничной пневмонией и инвазивной пневмококковой инфекцией (исследование «SPECTRUM»). *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(4):275–81. Muraviov A.A., Chagaryan A.N., Ivanchik N.V., et al. The prevalence of circulating *S. pneumoniae* serotypes in people older than 18 years: healthy carriers, patients with acute otitis media, community-acquired pneumonia, and invasive pneumococcal infections (epidemiological study «Spectrum»). *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;21(4):275–81. DOI: <https://doi.org/10.36488/cmasc.2019.4.275-281> EDN: <https://elibrary.ru/oshttr>
 10. Миронов К.О., Корчагин В.И., Михайлова Ю.В. и др. Характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных инвазивными пневмококковыми инфекциями, с использованием высокопроизводительного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(2):113–8. Mironov K.O., Korchagin V.I., Mikhailova Yu.V. et al. Characterization of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from patients with invasive pneumococcal infections using high-throughput sequencing. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2020;97(2):113–8. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-113-118> EDN: <https://elibrary.ru/lxmqy>
 11. Ono T., Watanabe M., Hashimoto K., et al. Serotypes and antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* before and after the introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine for adults and children in a rural area in Japan. *Pathogens*. 2023 21;12(3):493. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens12030493>
 12. Миронов К.О., Гапонова И.И., Корчагин В.И. и др. Антигенная и генетическая характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными пневмококковыми инфекциями, с использованием высокопроизводительного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(5):512–8. Mironov K.O., Gaponova I.I., Korchagin V.I., et al. Antigenic and genetic characterization of streptococcus pneumoniae strains isolated from patients with invasive and non-invasive pneumococcal infections by using high-throughput sequencing. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(5):512–8. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-144> EDN: <https://elibrary.ru/kvjhkk>
 13. Alcock B.P., Huynh W., Chalil R, et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Res*. 2023;51(D1):D690–9. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac920>
 14. Snipen L., Liland K.H. Micropan: an R-package for microbial pan-genomics. *BMC Bioinformatics*. 2015;16:79. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12859-015-0517-0>
 15. Brynildsrud O., Bohlin J., Scheffer L., et al. Rapid scoring of genes in microbial pan-genome-wide association studies with Scoary. *Genome Biol*. 2016;17(1):238. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1108-8>
 16. van der Linden M., Perniciaro S., Imöhl M. Increase of serotypes 15A and 23B in IPD in Germany in the PCV13 vaccination era. *BMC Infect. Dis*. 2015;15:207. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0941-9>
 17. Sheppard C, Fry N.K., Mushtaq S., et al. Rise of multi-drug-resistant non-vaccine serotype 15A *Streptococcus pneumoniae* in the United Kingdom, 2001 to 2014. *Euro Surveill*. 2016;21(50):30423. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2016.21.50.30423>
 18. Nakano S., Fujisawa T., Ito Y., et al. Spread of meropenem-resistant *Streptococcus pneumoniae* serotype 15A-ST63 clone in Japan, 2012–2014. *Emerg. Infect. Dis*. 2018;24(2):275–83. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2402.171268>
 19. Harboe Z.B., Thomsen R., Riis A., et al. Pneumococcal serotypes and mortality following invasive pneumococcal disease: a population-based cohort study. *PLoS Med*. 2009;6(5):e1000081. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000081>
 20. Oligbu G., Collins S., Sheppard C.L., et al. Childhood deaths attributable to invasive pneumococcal disease in England and Wales, 2006–2014. *Clin. Infect. Dis*. 2017;65(2):308–14. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/cix310>
 21. Stanek R.J., Norton N., Mufson M.A. A 32-year study of the effect of pneumococcal vaccines on invasive *Streptococcus pneumoniae* disease. *Am. J. Med. Sci*. 2016;352(6):563–73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2016.09.002>
 22. van Hoek A.J., Andrews N., Waight P.A., et al. Effect of serotype on focus and mortality of invasive pneumococcal disease: coverage of different vaccines and insight into non-vaccine serotypes. *PLoS One*. 2012;7(7):e39150. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039150>
 23. Olarte L., Barson W.J., Barson R.M., et al. Impact of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal meningitis in US Children. *Clin. Infect. Dis*. 2015;61(5):767–75. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/civ368>
 24. Thigpen M.C., Whitney C.G., Messonnier N.E., et al. Emerging Infections Programs Network. Bacterial meningitis in the United States, 1998–2007. *N. Engl. J. Med*. 2011;364(21):2016–25. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1005384>
 25. Shi W., Du Q., Yuan L., et al. Antibiotic resistance and molecular biological characteristics of non-13-valent-pneumococcal conjugate vaccine serogroup 15 *Streptococcus pneumoniae* isolated from children in China. *Front. Microbiol*. 2022;12:778985. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.778985>
 26. Bruce K.E., Rued B., Tsui H.T., Winkler M.E. The Opp (Ami-ACDEF) oligopeptide transporter mediates resistance of serotype 2 *Streptococcus pneumoniae* D39 to killing by chemokine CXCL10 and other antimicrobial peptides. *J. Bacteriol*. 2018;200(11):e00745-17. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.00745-17>
 27. Thompson C.D., Bradshaw J., Miller W.S., et al. Oligopeptide transporters of nonencapsulated *Streptococcus pneumoniae* regulate CbpA and PspA expression and reduce complement-mediated clearance. *mBio*. 2023;14(1):e0332522. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.03325-22>
 28. Oggioni M.R., Memmi G., Maggi T., et al. Pneumococcal zinc metalloproteinase ZmpC cleaves human matrix metalloproteinase 9 and is a virulence factor in experimental pneumonia. *Mol. Microbiol*. 2003;49(3):795–805. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03596.x>
 29. van Selm S., van Cann L., Kolkman M.A., et al. Genetic basis for the structural difference between *Streptococcus pneumoniae* serotype 15B and 15C capsular polysaccharides. *Infect. Immunol*. 2003;71(11):6192–8. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.71.11.6192-6198.2003>
 30. Spencer B.L., Shenoy A.T., Orihuela C.J., Nahm M.H. The pneumococcal serotype 15C capsule is partially o-acetylated and allows for limited evasion of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine-elicited anti-serotype 15B antibodies. *Clin. Vaccine Immunol*. 2017;24(8):e00099-17. DOI: <https://doi.org/10.1128/CI.100099-17>
 31. Hao L., Kuttel M.M., Ravenscroft N., et al. *Streptococcus pneumoniae* serotype 15B polysaccharide conjugate elicits a cross-functional immune response against serotype 15C but not 15A. *Vaccine*. 2022;40(33):4872–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.06.041>

32. Abdoli S., Safamanesh S., Khosrojerdi M., Azimian A. Molecular detection and serotyping of *Streptococcus pneumoniae* in children with suspected meningitis in Northeast Iran. *Iran. J. Med. Sci.* 2020;45(2):125–33. DOI: <https://doi.org/10.30476/IJMS.2019.45423>
33. Kellner J.D., Vanderkooi O.G., Macdonald J., et al. Effects of routine infant vaccination with the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal colonization with streptococcus pneumoniae in children in Calgary, Canada. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2008;27(6):526–32. DOI: <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3181658c5c>
34. Richter S.S., Dohrn C.L., Riahi F., et al. Changing epidemiology of antimicrobial-resistant *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 2004–2005. *Clin. Infect. Dis.* 2009;48(3):e23–33. DOI: <https://doi.org/10.1086/595857>
35. Brueggemann A.B., Meats E., Peto T., et al. Clonal relationships between invasive and carriage *Streptococcus pneumoniae* and serotype- and clone-specific differences in invasive disease potential. *J. Infect. Dis.* 2003;187(9):1424–32. DOI: <https://doi.org/10.1086/374624>
36. Sjöström K., Spindler C., Ortvist A., et al. Clonal and capsular types decide whether pneumococci will act as a primary or opportunistic pathogen. *Clin. Infect. Dis.* 2006;42(4):451–9. DOI: <https://doi.org/10.1086/499242>
37. Camilli R., Bonnal R., Del Grosso M., et al. Complete genome sequence of a serotype 11A, ST62 *Streptococcus pneumoniae* invasive isolate. *BMC Microbiol.* 2011;11:25. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-25>
38. Higgins M.A., Suits M.D., Marsters C., Boraston A.B. Structural and functional analysis of fucose-processing enzymes from *Streptococcus pneumoniae*. *J. Mol. Biol.* 2014;426(7):1469–1482. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.12.006>
39. Brown J., Hammerschmidt S., Orihuela C., eds. *Streptococcus pneumoniae: molecular mechanisms of host-pathogen interactions*. Elsevier;2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2012-0-00722-3>
40. Morozov G.I., Porat N., Kushnir T., et al. Flavin reductase contributes to pneumococcal virulence by protecting from oxidative stress and mediating adhesion and elicits protection against pneumococcal challenge. *Sci. Rep.* 2018;8(1):314. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18645-8>
41. Calix J.J., Brady A., Du V.Y., et al. Spectrum of pneumococcal serotype 11A variants results from incomplete loss of capsule O-acetylation. *J. Clin. Microbiol.* 2014;52(3):758–65. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.02695-13>
42. Oliver M.B., Jones C., Larson T.R., et al. *Streptococcus pneumoniae* serotype 11D has a bispecific glycosyltransferase and expresses two different capsular polysaccharide repeating units. *J. Biol. Chem.* 2013;288(30):21945–54. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.488528>
43. Calix J.J., Nahm M., Zartler E.R. Elucidation of structural and antigenic properties of pneumococcal serotype 11A, 11B, 11C, and 11F polysaccharide capsules. *J. Bacteriol.* 2011;193(19):5271–8. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.05034-11>

Информация об авторах

Исаева Гузель Шавхатовна[✉] — д.м.н., зам. директора Казанского НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казань, Россия; зав. каф. микробиологии им. акад. В.М. Аристовского Казанского государственного медицинского университета, Казань, Россия, guisaeva@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1462-8734>

Цветкова Ирина Анатольевна — к.б.н., м.н.с. научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия; ассистент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0170-6975>

Никитина Екатерина Валерьевна — к.б.н., н.с. научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9737-9496>

Зарипова Альбина Zufаровна — ассистент каф. микробиологии им. акад. В.М. Аристовского Казанского государственного медицинского университета, Казань, Россия; начальник отдела кадров Центра гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан), Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6790-0538>

Баязитова Лира Табрисовна — к.м.н., зав. научно-исследовательской лабораторией микробиологии Казанского НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казань, Россия; доцент каф. микробиологии им. акад. В.М. Аристовского Казанского государственного медицинского университета, Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2142-7682>

Исаева Регина Алексеевна — врач-эпидемиолог Казанского НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казань, Россия; ординатор Казанского государственного медицинского университета, Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4366-6315>

Полев Дмитрий Евгеньевич — к.б.н., с.н.с. группы метагеномных исследований отдела эпидемиологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9679-2791>

Саитова Алина Тимуровна — лаборант-исследователь группы метагеномных исследований отдела эпидемиологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5921-0745>

Information about the authors

Guzel Sh. Isaeva[✉] — D. Sci. (Med.), Deputy Director, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia; Head, Department of microbiology named after Academician V.M. Aristovsky, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1462-8734>

Irina A. Tsvetkova — Cand. Sci. (Biol.), junior researcher, Research department of medical microbiology and molecular epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia; assistant, Department of microbiology, virology and immunology, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0170-6975>

Ekaterina V. Nikitina — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Research department of medical microbiology and molecular epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9737-9496>

Albina Z. Zaripova — assistant, Department of microbiology named after Academician V.M. Aristovsky, Kazan State Medical University, Kazan, Russia; Head, Personnel department, Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan (Tatarstan), Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6790-0538>

Lira T. Bayazitova — Cand. Sci. (Med.), Head, Research laboratory of microbiology, Kazan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia; Associate Professor, Department of microbiology named after Academician V.M. Aristovsky, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2142-7682>

Regina A. Isaeva — epidemiologist, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia; resident, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4366-6315>

Dmitry E. Polev — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Metagenomic research group, Department of epidemiology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9679-2791>

Alina T. Saitova — laboratory assistant-researcher, Metagenomic research group, Department of epidemiology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5921-0745>

Краева Людмила Александровна — д.м.н., профессор, зав. лаб. медицинской бактериологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9115-3250>

Гончаров Никита Евгеньевич — м.н.с. лаб. медицинской бактериологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6097-5091>

Калиногорская Ольга Серафимовна — н.с. научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0170-6975>

Гордеева Светлана Александровна — зав. Централизованной бактериологической лабораторией Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0370-9624>

Сидоренко Сергей Владимирович — д.м.н., профессор, зав. научно-исследовательским отделом медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3550-7875>

Вклад авторов: *Исаева Г.Ш.* — концепция и дизайн исследования, написание текста; *Цветкова И.А.* — сбор и обработка материала, написание текста; *Никитина Е.В.* — сбор и обработка материала, редактирование; *Зарипова А.З.* — обработка и анализ материала, статистическая обработка материала; *Баязитова Л.Т.* — организация сбора и обработки материала; *Исаева Р.А., Полев Д.Е., Саитова А.Т., Гончаров Н.Е., Калиногорская О.С., Гордеева С.А.* — сбор и обработка материала; *Краева Л.А.* — организация обработки материала; *Сидоренко С.В.* — концепция и дизайн исследования, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 17.04.2024;
принята к публикации 22.06.2024;
опубликована 29.08.2024

Lyudmila A. Kraeva — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Laboratory of medical bacteriology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9115-3250>

Nikita E. Goncharov — junior researcher, Laboratory of medical bacteriology, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6097-5091>

Olga S. Kalinogorskaya — researcher, Research department of medical microbiology and molecular epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0170-6975>

Svetlana A. Gordeeva — Head, Centralized bacteriological laboratory, Clinical Infectious Diseases Hospital named after S.P. Botkin, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0370-9624>

Sergey V. Sidorenko — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Research department of medical microbiology and molecular epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3550-7875>

Author contribution: *Isaeva G.Sh.* — concept and design of research, writing text; *Tsvetkova I.A.* — collection and processing of material, writing text; *Nikitina E.V.* — collection and processing of material, editing; *Zaripova A.Z.* — processing and analysis of material, statistical processing of material; *Bayazitova L.T.* — organization of collection and processing of material; *Isaeva R.A., Polev D.E., Saitova A.T., Goncharov N.E., Kalinogorskaya O.S., Gordeeva S.A.* — collection and processing of material; *Kraeva L.A.* — organization of material processing; *Sidorenko S.V.* — concept and design of research, editing. All authors confirm that their authorship meets the ICMJE criteria, made a significant contribution to the search and analytical work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

The article was submitted 17.04.2024;
accepted for publication 22.06.2024;
published 29.08.2024

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-548>



Распространённость генов *qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxB*, *acrA*, *serA* и *zitB* среди мультирезистентных *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в кардиохирургическом стационаре

Михайловская В.С., Селиванова П.А., Кузнецова М.В.✉

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

Аннотация

Актуальность. Инфекции, вызванные *Klebsiella pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), являются основной причиной смертности во всём мире. Широкое использование дезинфицирующих средств и антисептиков привело к появлению *K. pneumoniae* со сниженной чувствительностью к ним, что в сочетании с МЛУ может представлять существенную эпидемиологическую угрозу.

Целью исследования была оценка распространённости генов эффлюксных насосов и транспортёров, ассоциированных с устойчивостью к биоцидам, и их связи с резистентностью к антибиотикам среди изолятов *K. pneumoniae*, выделенных в кардиохирургическом стационаре.

Материалы и методы. Изоляты *K. pneumoniae* ($n = 50$), выделенные из клинического материала пациентов и смывов с медицинского оборудования, были проверены методом полимеразной цепной реакции на присутствие генов 4 типов эффлюксных насосов (*qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxB*, *acrA*) и 2 транспортёров, участвующих в оттоке катионов (*serA*) и ионов цинка (*zitB*). Для оценки силы ассоциации между генами устойчивости к биоцидам, генами бета-лактамаз и мобильных генетических элементов использовали тест ранговой корреляции Спирмена.

Результаты. Встречаемость *K. pneumoniae*, содержащих в геноме *qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxB*, *acrA*, *serA* и *zitB*, оказалась высокой: 54, 62, 100, 84, 100, 72 и 96% соответственно. Наиболее часто были обнаружены *K. pneumoniae* с комбинацией всех исследуемых насосов (32%), причём такие культуры были в 100% случаев мультирезистентными. Гены *qacE*, *qacEΔ1* были тесно связаны с устойчивостью к цефалоспорином, карбапенемам, фторхинолонам, генами карбапенемаз и интегронами. Среди клинических изолятов *K. pneumoniae* с МЛУ были широко представлены гены различных эффлюксных насосов, ассоциированных с устойчивостью к биоцидам, и их комбинации.

Заключение. Высокая распространённость генов эффлюксных насосов, ассоциированных с устойчивостью к четвертичным соединениям аммония, хлоргексидину и солям цинка, и их значимая связь с антибиотикорезистентностью у нозокомиальных *K. pneumoniae* подчёркивают важность дальнейшего изучения механизмов кросс-резистентности к биоцидам для совершенствования методов борьбы с патогенами с МЛУ.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, гены эффлюксных насосов и транспортёров, устойчивость к антибиотикам, гены бета-лактамаз, мобильные генетические элементы

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Институциональным наблюдательным советом Института экологии и генетики микроорганизмов (протокол № 26, дата утверждения 22.05.2024).

Благодарность. Авторы статьи выражают благодарность к.м.н. Ларисе Геннадьевне Кудрявцевой и д.м.н. Виктору Ивановичу Сергеевину за предоставленный биологический материал для молекулярно-генетического анализа.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках НИОКР № 124020500028-4.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Михайловская В.С., Селиванова П.А., Кузнецова М.В. Распространённость генов *qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxB*, *acrA*, *serA* и *zitB* среди мультирезистентных *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в кардиохирургическом стационаре. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):502–511.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-548>

EDN: <https://www.elibrary.ru/foyce>

Prevalence of *qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxB*, *acrA*, *cepA* and *zitB* genes among multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated in a cardiac hospital

Veronika S. Mihailovskaya, Polina A. Selivanova, Marina V. Kuznetsova[✉]

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

Abstract

Background. Infections caused by multidrug-resistant (MDR) *Klebsiella pneumoniae* are the leading cause of mortality worldwide. The widespread use of disinfectants and antiseptics has caused the emergence of *K. pneumoniae* with reduced sensitivity to them, which, in combination with MDR, can pose a significant epidemiological threat.

The aim of the study was to assess the prevalence of efflux pump and transporter genes associated with biocide resistance and their association with antibiotic resistance among *K. pneumoniae* isolated in a cardiac surgical hospital.

Materials and methods. *K. pneumoniae* isolates ($n = 50$) from the patients and medical equipment were tested by polymerase chain reaction for the presence of genes of 4 types of efflux pumps (*qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxB*, *acrA*) and 2 transporters involved in the outflow of cations (*cepA*) and zinc ions (*zitB*). Spearman's rank correlation test was used to assess the strength of the association between the efflux pumps, beta-lactamase genes and mobile genetic elements.

Results. The occurrence of *K. pneumoniae* containing *qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxB*, *acrA*, *cepA* and *zitB* was high: 54, 62, 100, 84, 100, 72 и 96% respectively. *K. pneumoniae* with a combination of all the studied pumps was most often detected (32%), and these isolates were MDR in 100% of cases. The *qacE*, *qacEΔ1* genes were closely associated with resistance to cephalosporins, carbapenems, fluoroquinolones, carbapenemase genes, and integrons. The results of the study showed that the genes of various efflux pumps associated with biocide resistance and their combinations were widely represented among the clinical isolates of MDR *K. pneumoniae*.

Conclusion. The high prevalence of efflux pump genes associated with resistance to quaternary ammonium compounds, chlorhexidine and zinc salts and their significant association with antibiotic resistance in nosocomial *K. pneumoniae* underlines the importance of further studying the mechanisms of cross-resistance to biocides to improve methods of combating MDR nosocomial pathogens.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, genes of efflux pumps and transporters, resistance to antibiotics, beta-lactamase genes, mobile genetic elements

Ethics approval. The study protocol was approved by the Institutional Review Board of the Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms (protocol No. 26, May 22, 2024).

Acknowledgement. The authors of the article express their gratitude to Larisa G. Kudryavtseva, Cand. Sci. (Med.) and Viktor I. Sergeevnin D. Sci. (Med.) for providing the biological material for molecular genetic analysis.

Funding source. The work was carried out within the framework the state assignment No. 124020500028-4.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Mihailovskaya V.S., Selivanova P.A., Kuznetsova M.V. Prevalence of *qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxB*, *acrA*, *cepA* and *zitB* genes among multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated in a cardiac hospital. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(4):502–511.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-548>

EDN: <https://www.elibrary.ru/fcoyee>

Введение

Klebsiella pneumoniae является одним из ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в кардиохирургических стационарах. Представители этого вида, согласно классификации Всемирной организации здравоохранения, относятся к группе приоритетных патогенов, поскольку инфекции, вызванные мульти- и панрезистентными *K. pneumoniae*, ассоциированы

с высокой смертностью пациентов [1]. Необходимой частью программы инфекционного контроля и предотвращения внутрибольничных инфекций является обработка поверхностей дезинфектантами и антисептиками [2]. Часто использующиеся в качестве дезинфицирующих средств четвертичные аммониевые соли (ЧАС) обладают способностью прикрепляться к клеточной стенке бактерий благодаря положительному заряду, что вызывает её структур-

ную дезорганизацию и лизис клеток. Хлоргексидин может ковалентно связываться с мембраной, что в конечном итоге приводит к деполаризации и гибели клеток бактерий [3]. Широкое применение дезинфицирующих средств и антисептиков (в том числе в общественных и медицинских учреждениях во время пандемии COVID-19) вызвало возникновение резистентных к ним *K. pneumoniae*, что в сочетании с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) может представлять существенную эпидемиологическую угрозу [4, 5].

Одним из механизмов резистентности *K. pneumoniae* к биоцидам является экспрессия эффлюксных насосов (ЭН). Существуют 6 семейств эффлюксных систем: основное суперсемейство мембранных транспортеров (MFS), суперсемейство оттока лекарственных и токсичных веществ (MATE), суперсемейство АТФ-связывающих бактериальных кассетных транспортеров (ABC), суперсемейство малых транспортеров множественной лекарственной устойчивости (SMR), суперсемейство связывающе-транспортирующих протеинов (RND) и недавно описанная протеобактериальная антимикробная эффлюксная структура (PACE) [6, 7]. AcrAB, OqxAB, EefAB и KexD относятся к белкам суперсемейства RND, которое является наиболее важным у грамотрицательных бактерий. Среди ЭН наибольшую значимость представляют AcrAB и OqxAB [8]. Гены *qacE* и *qacEΔ1* впервые были описаны у *K. pneumoniae* в 3'-консервативном сегменте интегрона плазмиды R751 [9]. Ген *qacEΔ1* представляет собой модифицированную форму *qacE*, которая возникла в результате вставки сегмента ДНК, содержащего ген устойчивости к сульфаниламиду вблизи 3'-конца гена *qacE*. упомянутые ЭН относятся к суперсемейству SMR и обуславливают устойчивость к органическим катионам. Известно, что *sepA*, кодирующий насос оттока катионов, связан с устойчивостью к хлоргексидину у *K. pneumoniae* [10]. *ZitB* участвует в конститутивном пути экспорта цинка, способствуя гомеостазу клетки во время воздействия низких и умеренных концентраций ионов металла [11].

Гены группы *qac* часто выявляются в ассоциации с генами, кодирующими устойчивость к антибиотикам разных групп, в том числе к бета-лактамам [12]. В нескольких работах отмечается, что присутствие насоса AcrAB-TolC способствовало снижению минимальной ингибирующей концентрации ципрофлоксацина [13] и бета-лактамов [4] и формированию МЛУ. Важно, что гены ЭН, связанных с устойчивостью к биоцидам, располагаются не только на хромосоме (*emrE*, *mdfA*, *sugE*, *ydgE*, *ydgF*), но и на мобильных генетических элементах (*oqxA*, *oqxB*, *qacEΔ1*, *qacE*, *qacF/H/I*, *qacG*, *sugE*), таких как плазмиды, интегроны и транспозоны [14]. Более того, гены ЭН могут быть локализованы на тех же мобильных элементах, что и гены устойчи-

вости к антибиотикам, что приводит к перекрестной или ко-резистентности к дезинфектантам, антисептикам и антимикробным препаратам [14].

Ранее мы представили молекулярно-генетическую характеристику изолятов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов и проб окружающей среды в кардиохирургическом стационаре [15].

Цель исследования — оценка распространённости генов ЭН и транспортёров, ассоциированных с устойчивостью к биоцидам, и их связи с резистентностью к антибиотикам среди изолятов *K. pneumoniae*, выделенных в условиях кардиохирургического стационара.

Материалы и методы

Бактериальные изоляты

Исследовали 50 изолятов *K. pneumoniae*, выделенных в 2021–2022 гг. из клинического материала пациентов (мокрота, кровь, моча, содержимое ран) и смывов с медицинского оборудования кардиохирургического стационара. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Институциональным наблюдательным советом Института экологии и генетики микроорганизмов (протокол № 26, дата утверждения 22.05.2024).

Бактериологические исследования были выполнены на автоматическом анализаторе «Walk-Away-96 Plus» («Beckman Coulter») с использованием панели NBC 41. Чувствительность к антибиотикам (ампициллин, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, цефепим, меропенем, имипенем, ампициллин/сульбактам, ампициллин/клавуланат, ципрофлоксацин, левофлоксацин, амикацин, гентамицин) и присутствие генов бета-лактамаз (*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA}, *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM-2}, *bla*_{IMP-1}, *bla*_{NDM-1}) оценивали ранее [15]. Фенотип МЛУ определяли как нечувствительность штаммов хотя бы к одному препарату 3 и более классов антибиотиков.

Детекция генов ЭН и мобильных генетических элементов

ДНК изолятов *K. pneumoniae* экстрагировали путём прогрева суспензии клеток бактерий в течение 15 мин при 97°C в твёрдотельном термостате «Термит», пробы охлаждали, центрифугировали 5 мин при 13 000 об/мин, супернатанты переносили в чистые пробирки Эппендорф и хранили при –20°C. Методом ПЦР детектировали гены ЭН, ассоциированных с устойчивостью к ЧАС и хлоргексидину (*qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxB*, *acrA*), ген транспортёра катионов (*sepA*), ген *zitB*, кодирующий транспортёр цинка, ген интегронов класса 1 (*int1*), а также плазмиды IncQ, распространённой в клинических *K. pneumoniae*. Праймеры, синтезированные ООО «Синтол» согласно рекомендациям ав-

торов, условия проведения ПЦР и размеры ампликонов указаны в **табл. 1**. Амплификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси с использованием реагентов производства ООО «Синтол» на термоциклере «DNA Engine Dyad Thermal Cycler» («Bio-Rad»). Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 1,2–2,0% агарозном геле в трис-боратном буфере при напряжении электрического поля 6 В/см. Визуализацию полос и документирование данных осуществляли с помощью системы гель-документации «Gel-DocXR» («Bio-Rad»).

Статистический анализ

Для выявления значимых различий между качественными показателями выборок определяли точный критерий Фишера (двусторонний). Значения $p < 0,05$ считали достоверными. Тест ранговой корреляции Спирмена использовали для оценки силы ассоциации между генами ЭН и транспортёров, генами бета-лактамаз и мобильных генетических элементов. Сила связи была классифицирована по значению коэффициента r_s на очень слабую (0,00–0,19), слабую (0,20–0,39), среднюю (0,40–0,59), сильную (0,60–0,79) и очень сильную (0,80–1,0).

Результаты

Все протестированные гены ЭН встречались с высокой частотой среди изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из биологического материала пациен-

тов и медицинского оборудования кардиохирургического стационара (**рис. 1, а**). Распространённость генов *qacE*, *qacEΔ1*, *oqxB* и *cepA*, ассоциированных с устойчивостью к хлоргексидину и ЧАС, оказалась значительной и составила 62% (31/50), 54% (27/50), 84% (42/50) и 72% (36/50) соответственно. Гены *oqxA* и *acrA* были обнаружены у всех изолятов. Встречаемость *K. pneumoniae*, содержащих ген системы выброса ионов цинка (*zitB*), составила 96% (48/50). В целом в геномах *K. pneumoniae* было обнаружено 3–7 генов разных ЭН и транспортёров одновременно, причём в исследуемой выборке более половины культур имели 6 и более ЭН (58%, 29/50). Важно отметить, что изоляты с МЛУ содержали больше разных эффлюксных систем, чем чувствительные *K. pneumoniae* ($p < 0,05$, *t*-тест) (**рис. 1, б**).

Детектировано 14 индивидуальных паттернов, среди которых комбинация всех исследуемых генов (*qacE* + *qacEΔ1* + *cepA* + *zitB* + *oqxA* + *oqxB* + *acrA*) встречалась наиболее часто (32%, 16/50). Эти 16 культур были в 100% случаев с МЛУ, в частности устойчивы ко всем протестированным бета-лактамам антибиотикам и фторхинолонам. Каждая из последующих комбинаций встречалась с частотой менее 12% (**табл. 2**).

В **табл. 3** показана ассоциация между генами ЭН и транспортёров и фенотипом резистентности к антибиотикам *K. pneumoniae*. Гены *qacE*, *qacEΔ1* были тесно связаны с устойчивостью к цефалоспо-

Таблица 1. Используемые в исследовании последовательности праймеров, условия проведения ПЦР и ожидаемый размер ампликона

Table 1. Primer sequences used in the study, the conditions for PCR and the expected size of the amplicons

Ген Gene	Нуклеотидная последовательность (5'–3') Nucleotide sequence (5'–3')	Условия ПЦР PCR conditions	Размер, п.н. Size, bp	Ссылка Reference
ЭН и транспортёры Efflux pumps and transporters				
<i>qacEΔ1</i>	F: TAGCGAGGGCTTTACTAAGC R: ATTCAGAATGCCGAACACCG	93°C, 2 m; 35 [93°C, 30 s; 55°C, 30 s; 72°C, 1 m]; 72°C, 5 m	300	
<i>qacE</i>	F: CCCGAATTCATGAAAGGCTGGCTT R: AAGCTTTCACCATGGCGTCGG		350	[16]
<i>cepA</i>	F: CAACTCCTTCGCCTATCCCG R: TCAGGTCAGACCAAACGGCG	94°C, 5 m; 30 [94°C, 30 s; 53°C, 60 s; 72°C, 2 m]; 72°C, 7 m	1051	
<i>oqxA</i>	F: CTCGGCGCGATGATGCT R: CCACTCTTACGGGAGACGA	95°C, 1 m; 35 [95°C, 45 s; 60°C, 45 s; 72°C, 1 m]; 72°C, 5 m	392	[17]
<i>oqxB</i>	F: TTCTCCCCCGGCGGGAAGTAC R: CTCGGCCATTTGGCGCGTA		512	
<i>acrA</i>	F: GCTGTGACGGTTAATGACTTTACAGAGG R: ACATCCGAGAATCCAGCGT	94°C, 3 m; 34 [94°C, 45 s; 52°C, 45 s; 68°C, 1 m]; 72°C, 5 m	107	[18]
<i>zitB</i>	F: TACGACGCTTCAGTTCAGC R: CACTTTCGGTTGGCTAAGAC	95°C, 5 m; 30 [94°C, 30 s; 53°C, 60 s; 72°C, 60 s]; 72°C, 7 m	449	[19]
Мобильные генетические элементы Mobile genetic elements				
<i>intl</i>	F: GGCATCCAAGCAGCAAG R: AAGCAGACTTGACCTGA	94°C, 5 m; 35 [94°C, 30 s; 55°C, 30 s; 72°C, 2 m]; 72°C, 5 m	–*	[20]
<i>IncQ</i>	F: CTCGCCGTAATACTGTACAG R: ATCGACCGAGACAGGCCCTGC	94°C, 5 m; 35 [94°C, 30 s; 61°C, 30 s; 72°C, 2 m]; 72°C, 5 m	436	[21]

Примечание. *Продукт амплификации может быть представлен несколькими последовательностями разного размера.
Note. *The amplification product may be represented by several sequences of different size.

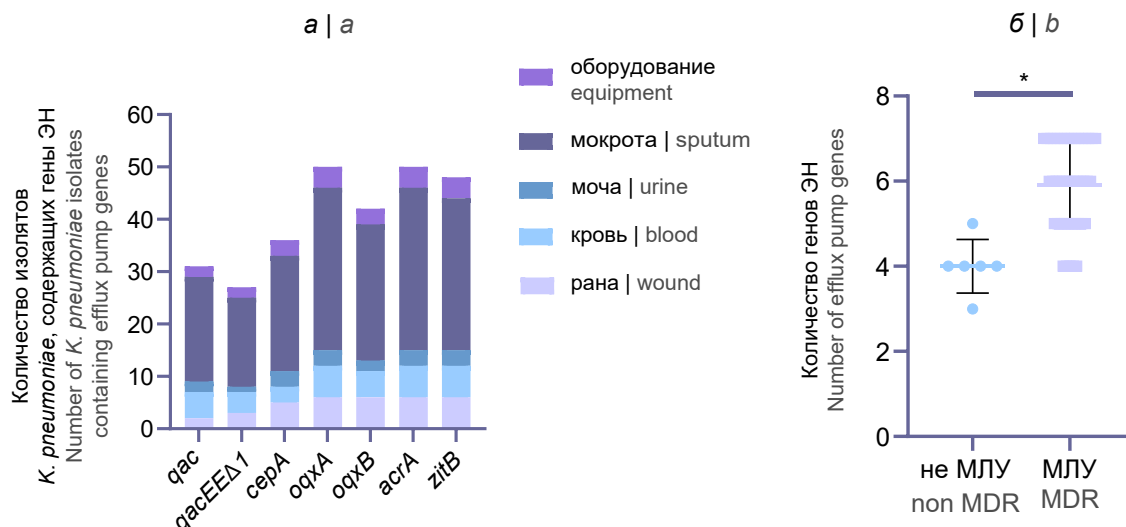


Рис. 1. Распространённость *K. pneumoniae*, содержащих гены ЭН, с учётом источника выделения (а); количество детектированных генов ЭН среди МЛУ и не-МЛУ *K. pneumoniae* (б).

* $p < 0,05$ (t-тест).

Fig. 1. The prevalence of *K. pneumoniae* isolates containing efflux pump genes by the source of isolation (a); the number of detected efflux pump genes among multidrug-resistant (MDR) and non-multidrug-resistant (non-MDR) *K. pneumoniae* (b).

* $p < 0,05$ (t-test).

ринам, карбапенемам и фторхинолонам, а *oqxV* — к цефалоспорином. Важно отметить, что только *K. pneumoniae* с МЛУ кодировали *qacE* и *qacEΔ1*. Не выявлено значимых ассоциаций генов *sepA* и *zitB* с фенотипом устойчивости к антибиотикам.

Таблица 2. Встречаемость индивидуальных комбинаций генов ЭН, ассоциированных с устойчивостью к биоцидам, среди изолятов *K. pneumoniae*

Table 2. The occurrence of individual combinations of efflux pump genes associated with biocide resistance among *K. pneumoniae*

Комбинации генов ЭН Efflux pump genes combinations	<i>n</i> (% от всех культур) (% of all isolates)
<i>qacE</i> + <i>qacEΔ1</i> + <i>sepA</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	16 (32)
<i>sepA</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	6 (12)
<i>sepA</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	5 (10)
<i>qacE</i> + <i>qacEΔ1</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	5 (10)
<i>qacE</i> + <i>sepA</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	4 (8)
<i>zitB</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	3 (6)
<i>qacE</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	3 (6)
<i>qacEΔ1</i> + <i>sepA</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	2 (4)
<i>zitB</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	1 (2)
<i>qacE</i> + <i>qacEΔ1</i> + <i>sepA</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	1 (2)
<i>qacE</i> + <i>qacEΔ1</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	1 (2)
<i>qacE</i> + <i>qacEΔ1</i> + <i>sepA</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	1 (2)
<i>sepA</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	1 (2)
<i>qacEΔ1</i> + <i>zitB</i> + <i>oqxV</i> + <i>oqxA</i> + <i>acrA</i>	1 (2)

С помощью корреляционного анализа выявлена позитивная связь между *qacEΔ1* и генами бета-лактамаз: *bla_{OXA}* ($r_s = 0,31$), *bla_{VIM-2}* ($r_s = 0,68$), *bla_{NDM-1}* ($r_s = 0,64$), *bla_{CTX-M}* ($r_s = 0,51$), *bla_{SHV}* ($r_s = 0,51$). Эти же гены показали значимую связь с *qacE* (рис. 2). В нашем исследовании гены *sepA* и *zitB* не показали позитивных корреляций с генами устойчивости к антибиотикам. Интегроны класса I длиной от 800 п.н. до 2500 п.н. были выявлены у 32 (64%) изолятов. Плазида группы несовместимости Q была обнаружена у 90% (45/50) *K. pneumoniae*. Корреляционный анализ показал значимую позитивную связь между генами насосов *qacE*, *qacEΔ1* и интегронами ($r_s = 0,70$ и $r_s = 0,65$; рис. 2).

Обсуждение

K. pneumoniae — распространённый патоген, вызывающий инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи. МЛУ этих бактерий к антибиотикам первой линии существенно затрудняет лечение. К тому же широкое использование биоцидов (особенно в сублетальных концентрациях) может вызвать резистентность к ним и, как следствие, способствовать сохранению *K. pneumoniae* в окружающей среде, в том числе на поверхностях медицинских приборов. Сниженная чувствительность бактерий к ЧАС, хлоргексидину и солям цинка в высокой степени связана с экспрессией ЭН. Во многих исследованиях показана важность ЭН для повышения устойчивости штаммов *K. pneumoniae* и к различным классам антибиотиков [22–24]. Важно отметить, что гены устойчивости к противомикробным препаратам часто находятся на

Таблица 3. Ассоциация между резистентностью к антибиотикам и генами ЭН изолятов *K. pneumoniae*
Table 3. Association between antibiotic resistance and efflux pump genes of *K. pneumoniae* isolates

Антибиотик/группа Antibiotic/group	Профиль Profile	Количество изолятов <i>K. pneumoniae</i> , позитивных на гены ЭН, <i>n</i> (%) The number of <i>K. pneumoniae</i> positive for the efflux pump genes, <i>n</i> (%)				
		<i>qacEΔ1</i>	<i>qacE</i>	<i>serA</i>	<i>oqxB</i>	<i>zitB</i>
Ампициллин Ampicillin	R (<i>n</i> = 50)	27 (54)	31 (62)	36 (72)	42 (84)	48 (96)
	S (<i>n</i> = 0)	0	0	0	0	0
Цефалоспорины Cephalosporins	R (<i>n</i> = 45)	27 (60)*	31 (68,9)*	34 (75,6)	38 (84,4)	44 (97,8)
	S (<i>n</i> = 5)	0	0	2 (40)	4 (80)	4 (80)
Карбапенемы Carbapenems	R (<i>n</i> = 38)	27 (71,1)*	30 (78,9)*	29 (76,3)	35 (92,1)*	37 (97,4)
	S (<i>n</i> = 12)	0	1 (8,3)	7 (58,3)	7 (58,3)	11 (91,7)
Ампициллин/сульбактам Ampicillin/sulbactam	R (<i>n</i> = 45)	27 (60)*	31 (68,9)*	34 (75,6)	38 (84,4)	44 (97,8)
	S (<i>n</i> = 5)	0	0	2 (40)	4 (80)	4 (80)
Амоксициллин/клавуланат Amoxicillin/clavulanic acid	R (<i>n</i> = 42)	26 (61,9)*	29 (69,1)*	32 (76,2)	36 (85,7)	41 (97,6)
	S (<i>n</i> = 8)	1 (12,5)	2 (25)	4 (50)	6 (75)	7 (87,5)
Фторхинолоны Fluoroquinolones	R (<i>n</i> = 44)	27 (61,4)*	31 (70,5)*	33 (75)	38 (86,4)	43 (97,7)
	S (<i>n</i> = 6)	0	0	3 (50)	4 (66,7)	5 (83,3)
Гентамицин Gentamicin	R (<i>n</i> = 29)	20 (69)*	21 (72,4)	19 (65,5)	25 (86,2)	28 (96,6)
	S (<i>n</i> = 21)	7 (33,3)	10 (47,6)	17 (81)	17 (81)	20 (95,2)
Амикацин Amikacin	R (<i>n</i> = 23)	16 (69,6)	15 (65,2)	17 (73,9)	20 (87)	22 (95,7)
	S (<i>n</i> = 27)	11 (40,7)	16 (59,3)	19 (70,4)	22 (81,5)	26 (96,3)
Фенотип МЛУ MDR phenotype	МЛУ MDR (<i>n</i> = 44)	27 (61,4)*	31 (70,5)*	33 (75)	38 (86,4)	43 (97,7)
	не-МЛУ non-MDR (<i>n</i> = 6)	0	0	3 (50)	4 (66,7)	5 (83,3)

Примечание. **p* < 0,05 — разница между выборками статистически значима (*F*-тест).
Note. **p* < 0,05 — difference between the samples is statistically significant (*F*-test).

мобильных генетических элементах, которые могут передаваться путём горизонтального переноса от одного штамма к другому. В данной работе у наиболее значимого нозокомиального патогена — *K. pneumoniae* мы изучили распространённость ЭН, связанных с устойчивостью к ЧАС и хлоргексидину, транспортёров, ассоциированных со сниженной чувствительностью к солям цинка, а также их связь с резистентностью к антибиотикам, наличием генов бета-лактамаз и мобильными генетическими элементами.

Одним из механизмов устойчивости к биоцидам грамотрицательных бактерий является экспрессия эффлюксных систем семейства SMR, которые кодируются генами *qacE* и *qacEΔ1* [25, 26]. С устойчивостью *K. pneumoniae* к хлоргексидину тесно связан *serA*, кодирующий белки системы оттока катионов [27]. В выборочных исследованиях по изучению резистентности клинических штаммов *K. pneumoniae* к бензалкония хлориду ген *qacEΔ1* обнаруживался в диапазоне от 53,1 до 68,0% [28, 29]. Согласно А. Abuzaid и соавт., среди *K. pneumoniae* ген *serA* встречался в 87,5% случаев [28]. В исследовании К.Г. Косяковой и соавт. частота встречаемости *qacE*, *qacEΔ1* и *serA* составила 33,3, 23,3 и

83,3% соответственно [25]. В нашем исследовании *qacEΔ1* и *qacE* были распространены в группе нозокомиальных *K. pneumoniae* с более высокой частотой: 62 и 54% соответственно. Встречаемость *serA* оказалась несколько ниже — 72%. В последнее время возрастает роль *OqxA*- и *OqxB*-насосов, входящих в семейство связывающе-транспортирующих белков [22]. Ранее J. Yuan и соавт. обнаружили гены *oqxAB* во всех исследованных штаммах *K. pneumoniae*, что позволило сделать предположение о геноме *K. pneumoniae* как возможном резервуаре *oqxAB* [32]. У клебсиелл в основном эти гены расположены в хромосоме, но могут находиться на плаزمиде и часто ассоциированы с устойчивостью к фторхинолонам, тигециклину, а также ЧАС и бигуанидным дезинфицирующим средствам [30, 31]. Меньший процент встречаемости данных детерминант показали М. Dehnamaki и соавт.: 57 и 56% изолятов несли гены *oqxA* и *oqxB* соответственно [17]. В исследовании L. Ni и соавт. частоты обнаружения *oqxA* и *oqxB* составили 60,9 и 17,2% [24]. В нашем исследовании ген *oqxA* детектирован у всех изолятов кардиохирургического стационара, тогда как *oqxB* содержали 84% культур. ЭН AcrAB-TolC обеспечивает толерантность бактерий к различным

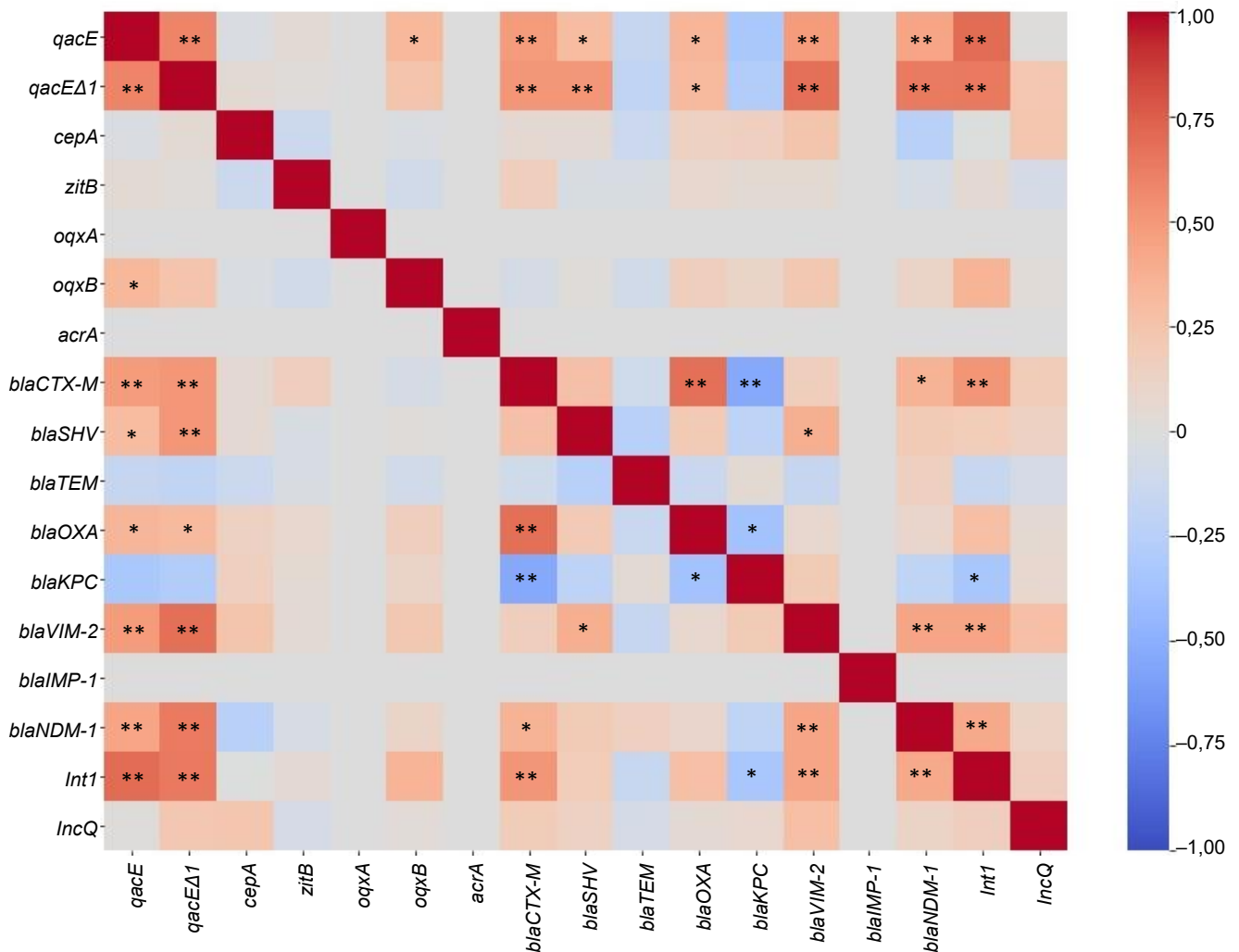


Рис. 2. Корреляционная матрица, отражающая силу связи между генами ЭН, генами бета-лактамаз и мобильными генетическими элементами.

Цветовое значение каждой ячейки соответствует коэффициенту корреляции Спирмена и пропорционально силе корреляции. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. Цветной вариант рисунка см. на сайте журнала.

Fig. 2. A correlation matrix reflecting the strength of the relationship between the efflux pumps genes, beta-lactamase genes and mobile genetic elements.

The color of each cell corresponds to the Spearman correlation coefficient and is proportional to the correlation strength. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. For a color version of the picture, see the journal's website.

антибиотикам, включая фторхинолоны, а также к биоцидам, включая этанол, хлоргексидина ацетат и бензалкония бромид [33]. Помимо вклада в фенотип МЛУ, AcrAB может представлять собой новый фактор вирулентности, необходимый *K. pneumoniae* для сопротивления иммунным защитным механизмам в лёгких, способствуя развитию пневмонии [34]. Ген *acrA*, кодирующий белок, соединяющий 2 интегральных мембранных белка, считается более консервативным, и его часто используют для обнаружения данного ЭН. В нашем исследовании все изоляты содержали *acrA*, тогда как, по данным W. Guo и соавт. [33], только 19% резистентных к карбапенемам *K. pneumoniae* включали данный ген. Важно отметить, что соли и наночастицы тяжёлых металлов активно используются в антисептических композициях. Сегодня ведётся активная разработка

противомикробных поверхностных веществ на основе меди, серебра и цинка для создания бинарных или тройных контактно-нейтрализующих поверхностных покрытий [35]. Было доказано, что ZnO более токсичен для бактерий в форме наночастиц, что делает его более перспективным. В данной работе распространённость культур, кодирующих транспортёр, опосредующий отток ионов цинка [36], — ZitB, составила 96%.

В нескольких работах отмечается, что резистентность к антибиотикам и биоцидам может многократно увеличиваться за счёт одновременной экспрессии ЭН разных семейств [4, 19, 22]. Важно отметить, что в исследуемой выборке наиболее часто встречались *K. pneumoniae* с комбинацией всех исследуемых насосов (32%), причём такие культуры были в 100% случаев с МЛУ. Ранее мы показали

высокую распространённость в изолятах кардиохирургического стационара bla_{OXA} , bla_{VIM-2} и bla_{NDM-1} . В этом исследовании выявлено, что гены группы qac чаще встречались в ассоциации с генами, кодирующими устойчивость к карбапенемам, — bla_{VIM-2} ($r_s = 0,68$) и bla_{NDM-1} ($r_s = 0,64$), что может быть обусловлено их локализацией в плазмид-опосредованных интегронах класса I и требует дальнейшего изучения. В исследовании Y. Chen и соавт. также было показано, что гены $qacE\Delta I$ и $serA$ были достоверно чаще представлены среди карбапенеморезистентных культур [16]. Глобальное распространение детерминант устойчивости к бета-лактамам антибиотикам, в том числе карбапенемам, является результатом их распространения посредством конъюгативных плазмид. Известны 5 групп несовместимости плазмид (Inc), которые описаны в литературе как потенциально ответственные за распространение генов bla_{KPC} и bla_{NDM} у изолятов *K. pneumoniae* [21]. Другие мобильные генетические элементы — интегроны — могут включать каскады устойчивости к противомикробным препаратам и дезинфектантам [37]. По данным F. Firoozeh и соавт., 100% изолятов *K. pneumoniae* ($n = 150$) с МЛЮ несли гены $intl$ [38]. В исследовании É.M. Oliveira и соавт. у клинических изолятов *K. pneumoniae* в госпитале г. Ресифи (Бразилия) наиболее часто обнаруживались плазмиды групп несовместимости Q и FIB [21]. Данные, полученные W.M.B.S. Martins и соавт., свидетельствуют о том, что *K. pneumoniae* с высококопийной плазмидой IncQ, несущей bla_{KPC-2} может эффективно передавать её путём конъюгативного переноса другим штаммам [39]. Плазмиды IncQ, способная реплицироваться в широком круге хозяев, была обнаружена в клиническом изоляте *K. pneumoniae*, выделенном от пациентов с COVID-19 в России [40]. В нашем исследовании интегроны класса I были детектированы у 64% *K. pneumoniae*, а плазмиды IncQ — у 90%. При этом выявлена значимая позитивная связь между генами ЭН $qacE$, $qacE\Delta I$ и интегронами.

Заключение

Проведено исследование по распространённости генов ЭН, а также транспортёров, участвующих в оттоке ионов металлов, оценена их связь с антибиотикоустойчивостью и генами, ассоциированными с резистентностью к бета-лактамам, среди культур *K. pneumoniae* с МЛЮ, выделенных от пациентов кардиохирургического стационара с нозокомиальной инфекцией. Показана значимая связь между устойчивостью к антибиотикам и присутствием генов ЭН, ассоциированных с устойчивостью к ЧАС, хлоргексидину и ионам цинка, что подчёркивает важность дальнейшего изучения механизмов кросс-резистентности к биоцидам для совершенствования методов борьбы с патогенами с МЛЮ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Ntshonga P., Gobe I., Koto G., et al. Biocide resistance in *Klebsiella pneumoniae*: a narrative review. *Infect. Prev. Pract.* 2024;6(2):100360. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.infpip.2024.100360>
2. Gerba C.P. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. *Appl. Environ. Microbiol.* 2015;81(2):464–9. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02633-14>
3. Зверьков А.В., Зузова А.П. Хлоргексидин: прошлое, настоящее и будущее одного из основных антисептиков. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2013;15(4):279–85. Zverkov A.V., Zouzova A.P. Chlorhexidine: past, present, and future of the famous antiseptic agent. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2013;15(4):279–85. EDN: <https://elibrary.ru/roxohj>
4. Maurya N., Jangra M., Tambat R., Nandanwar H. Alliance of efflux pumps with β -lactamases in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Microb. Drug Resist.* 2019;25(8):1155–63. DOI: <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0414>
5. Chen B., Han J., Dai H., Jia P. Biocide-tolerance and antibiotic-resistance in community environments and risk of direct transfers to humans: Unintended consequences of community-wide surface disinfecting during COVID-19? *Environ. Pollut.* 2021;283:117074. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117074>
6. Иванов М.Э., Фурсова Н.К., Потапов В.Д. Суперсемейства эффлюксных насосов *Pseudomonas aeruginosa* (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022;67(1):53–8. Ivanov M.E., Fursova N.K., Potapov V.D. *Pseudomonas aeruginosa* efflux pump superfamily (review of literature). *Clinical Laboratory Diagnostics.* 2022;67(1):53–8. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-1-53-58> EDN: <https://elibrary.ru/tkfgmf>
7. Ковальчук С.Н., Федорова Л.С., Ильина Е.Н. Молекулярные механизмы микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам. *Антибиотики и химиотерапия.* 2023;68(1-2):45–56. Kovalchuk S.N., Fedorova L.S., Ilina E.N. Molecular mechanisms of microbial resistance to disinfectants. *Antibiotics and Chemotherapy.* 2023;68(1-2):45–56. DOI: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-45-56> EDN: <https://elibrary.ru/hycybo>
8. Ntshonga P., Gobe I., Koto G., et al. Biocide resistance in *Klebsiella pneumoniae*: a narrative review. *Infect. Prev. Pract.* 2024;6(2):100360. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.infpip.2024.100360>
9. Stokes H.W., Hall R.M. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Mol. Microbiol.* 1989;3(12):1669–83. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1989.tb00153.x>
10. Fang C.T., Chen H.C., Chuang Y.P., et al. Cloning of a cation efflux pump gene associated with chlorhexidine resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002;46(6):2024–8. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.2024-2028.2002>
11. Wang D., Hosteen O., Fierke C.A. ZntR-mediated transcription of $zntA$ responds to nanomolar intracellular free zinc. *J. Inorg. Biochem.* 2012;111:173–81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.02.008>
12. Kücken D., Feucht H., Kaulfers P.M. Association of $qacE$ and $qacE\Delta I$ with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 2000;183(1):95–8. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb08939.x>
13. Pakzad I., Zayyen Karin M., Taherikalani M., et al. Contribution of AcrAB efflux pump to ciprofloxacin resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolated from burn patients. *GMS Hyg. Infect. Control.* 2013;8(2):Doc15. DOI: <https://doi.org/10.3205/dgkh000215>

14. Hrovat K., Zupančič J.Č., Seme K., Avguštin J.A. QAC resistance genes in ESBL-producing *E. coli* isolated from patients with lower respiratory tract infections in the central Slovenia region — a 21-year survey. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2023;8(5):273. DOI: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8050273>
15. Кузнецова М.В., Сергеев В.И., Михайловская В.С. и др. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в условиях кардиохирургического стационара. *Инфекция и иммунитет.* 2024;14(1):103–14. Kuznetsova M.V., Sergeev V.I., Mikhailovskaya V.S., et al. Microbiological and molecular genetic characteristics of *Klebsiella pneumoniae* isolates, extracted under conditions of cardiac surgery hospital. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2024;14(1):103–14. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MAM-15631> EDN: <https://elibrary.ru/dwusky>
16. Chen Y., Liao K., Huang Y., et al. Determining the susceptibility of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains against common disinfectants at a tertiary hospital in China. *BMC Infect. Dis.* 2020;20(1):88. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4813-6>
17. Dehnamaki M., Ghane M., Babaekhou L. Detection of OqxAB and QepA efflux pumps and their association with antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolated from urinary tract infection. *Int. J. Infect.* 2020;7(4):e107397. DOI: <https://doi.org/10.5812/iji.107397>
18. Li D.W., Onishi M., Kishino T., et al. Properties and expression of a multidrug efflux pump AcrAB-KocC from *Klebsiella pneumoniae*. *Biol. Pharm. Bull.* 2008;31(4):577–82. DOI: <https://doi.org/10.1248/bpb.31.577>
19. Deus D., Krischek C., Pfeifer Y., et al. Comparative analysis of the susceptibility to biocides and heavy metals of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates of human and avian origin, Germany. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2017;88(1):88–92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.01.023>
20. Lévesque C., Piché L., Larose C., Roy P.H. PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995;39(1):185–91. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.39.1.185>
21. Oliveira É.M., Beltrão E.M.B., Scavuzzi A.M.L., et al. High plasmid variability, and the presence of IncFIB, IncQ, IncA/C, IncHI1B, and IncL/M in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* with bla_{KPC} and bla_{NDM} from patients at a public hospital in Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2020;53:e20200397. DOI: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0397-2020>
22. Ni R.T., Onishi M., Mizusawa M., et al. The role of RND-type efflux pumps in multidrug-resistant mutants of *Klebsiella pneumoniae*. *Sci. Rep.* 2020;10(1):10876. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67820-x>
23. Gaurav A., Bakht P., Saini M., et al. Role of bacterial efflux pumps in antibiotic resistance, virulence, and strategies to discover novel efflux pump inhibitors. *Microbiology (Reading).* 2023;169(5):001333. DOI: <https://doi.org/10.1099/mic.0.001333>
24. Ni L., Zhang Z., Shen R., et al. Disinfection strategies for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a healthcare facility. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(6):736. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060736>
25. Косякова К.Г., Эсауленко Н.Б., Каменева О.А. и др. Распространенность генов карбапенемаз, qacE, qacEΔ1 и серА у множественно-резистентных грамотрицательных бактерий с различной чувствительностью к хлоргексидину. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2020;19(5):49–60. Kosyakova K.G., Esaulenko N.B., Kameneva O.A., et al. Prevalence of carbapenemase genes, qacE, qacEΔ1 and cepA in multidrug-resistant gram-negative bacteria with different susceptibility to chlorhexidine. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2020;19(5):49–60. DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-5-49-60> EDN: <https://elibrary.ru/avfflm>
26. Kazama H., Hamashima H., Sasatsu M., Arai T. Distribution of the antiseptic-resistance genes qacE and qacE delta 1 in gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 1998;159(2):173–8. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb12857.x>
27. Fang C.T., Chen H.C., Chuang Y.P., et al. Cloning of a cation efflux pump gene associated with chlorhexidine resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002;46(6):2024–8. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.2024-2028.2002>
28. Abuzaid A., Hamouda A., Amyes S. *Klebsiella pneumoniae* susceptibility to biocides and its association with cepA, qacΔE and qacE efflux pump genes and antibiotic resistance. *J. Hosp. Infect.* 2012;81(2):87–91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2012.03.003>
29. Pastrana-Carrasco J., Garza-Ramos J.U., Barrios H., et al. Pastrana-Carrasco J., Garza-Ramos J.U., Barrios H., et al. *QacEdelta1* gene frequency and biocide resistance in extended-spectrum beta-lactamase producing enterobacteriaceae clinical isolates. *Rev. Invest. Clin.* 2012;64(6 Pt. 1):535–40.
30. Zhong X., Xu H., Chen D., et al. First emergence of acrAB and oqxAB mediated tigecycline resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* pre-dating the use of tigecycline in a Chinese hospital. *PLoS One.* 2014;9(12):e115185. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115185>
31. Li J., Zhang H., Ning J., et al. The nature and epidemiology of OqxAB, a multidrug efflux pump. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2019;8:44. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0489-3>
32. Yuan J., Xu X., Guo Q., et al. Prevalence of the oqxAB gene complex in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* 2012;67(7):1655–9. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dks086>
33. Guo W., Shan K., Xu B., Li J. Determining the resistance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* to common disinfectants and elucidating the underlying resistance mechanisms. *Pathog. Glob. Health.* 2015;109(4):184–92. DOI: <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000022>
34. Padilla E., Llobet E., Doménech-Sánchez A., et al. *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010;54(1):177–83. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.00715-09>
35. Birkett M., Dover L., Cherian Lukose C., et al. Recent advances in metal-based antimicrobial coatings for high-touch surfaces. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(3):1162. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23031162>
36. Grass G., Fan B., Rosen B.P., et al. ZitB (YbgR), a member of the cation diffusion facilitator family, is an additional zinc transporter in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 2001;183(15):4664–7. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.183.15.4664-4667.2001>
37. Karampatakis T., Tsergouli K., Behzadi P. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: virulence factors, molecular epidemiology and latest updates in treatment options. *Antibiotics (Basel).* 2023;12(2):234. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020234>
38. Firoozeh F., Mahluji Z., Khorshidi A., Zibaei M. Molecular characterization of class 1, 2 and 3 integrons in clinical multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *J. Antimicrob. Res. Inf. Control.* 2019;8:59. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0509-3>
39. Martins W.M.B.S., Nicolas M.F., Yu Y., et al. Clinical and molecular description of a high-copy IncQ1 KPC-2 plasmid harbored by the international ST15 *Klebsiella pneumoniae*. *Clone. mSphere.* 2020;5(5):e00756-20. DOI: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00756-20>

40. Shelenkov A., Petrova L., Mironova A., et al. Long-read whole genome sequencing elucidates the mechanisms of amikacin resistance in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates

obtained from COVID-19 patients. *Antibiotics*. 2022;11:1364.
DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101364>

Информация об авторах

Михайловская Вероника Сергеевна — инженер лаб. молекулярной биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4264-8177>

Селиванова Полина Александровна — инженер лаб. молекулярной биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0009-0009-3718-8602>

Кузнецова Марина Валентиновна[✉] — д. м. н., в. н. с. лаб. молекулярной биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов, Пермь, Россия, mar@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2448-4823>

Участие авторов: Михайловская В.С. — концепция, дизайн исследования, статистическая обработка данных, визуализация, написание и оформление рукописи; Селиванова П.А. — проведение экспериментов, анализ литературы и экспериментальных данных, редактирование рукописи; Кузнецова М.В. — организация сбора материала, концепция исследования, редактирование рукописи, руководство. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 01.06.2024;
принята к публикации 20.08.2024;
опубликована 29.08.2024

Information about the authors

Veronika S. Mihailovskaya — engineer, Laboratory of molecular biotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4264-8177>

Polina A. Selivanova — engineer, Laboratory of molecular biotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia, <https://orcid.org/0009-0009-3718-8602>

Marina V. Kuznetsova[✉] — D. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of molecular biotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia, mar@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2448-4823>

Author contribution: Mihailovskaya V.S. — concept, research design, statistical data processing, visualization, writing and design of the text; Selivanova P.A. — conducting experiments, analyzing literature and experimental data, editing the manuscript; Kuznetsova M.V. — organizing the collection of material, research concept, editing the manuscript, management. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the article, acquisition, analysis, interpretation of data for the article, drafting and revising the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 01.06.2024;
accepted for publication 20.08.2024;
published 29.08.2024

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-524>



Оценка вклада симбиотических отношений микроорганизмов ротовой полости в развитие воспалительных изменений слизистой оболочки рта при полном отсутствии зубов

Шулятникова О.А., Яковлев М.В., Годовалов А.П.✉

Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

Аннотация

Введение. Фиксация на открытых поверхностях съёмных пластиночных протезов и мягких тканей ротовой полости бактерий в виде биоплёнки обеспечивает повышение вирулентности и резистентности микробного сообщества. Микроорганизмы, входящие в состав биоплёнки, зачастую находятся в симбиотических отношениях, что позволяет им увеличивать свой патогенный потенциал и вызывать развитие протезных стоматитов.

Цель исследования — оценка вклада симбиотических отношений бактерий ротовой полости в развитие воспалительных изменений слизистой оболочки рта при полном отсутствии зубов.

Материалы и методы. Сформированы две группы пациентов в возрасте 60–74 лет (82 мужчины и 49 женщин) с полным отсутствием зубов (K08.1), различающиеся по наличию клинических проявлений воспаления. Биологический материал, отобранный из ротовой полости пациентов, изучали с использованием культурального метода и полимеразной цепной реакции для выявления микроорганизмов полости рта. Для количественного выражения взаимодействия между членами микробиоценоза использовали коэффициент сходства Жаккара.

Результаты. У пациентов с полным отсутствием зубов в микробиоте протезного ложа доминировали коагулазоотрицательные и коагулазоположительные *Staphylococcus* spp., *Neisseria* spp., *Candida* spp., *Fusobacterium* spp. и представители порядка *Enterobacteriales*. Установлены выраженные симбиотические связи между микроорганизмами порядка *Enterobacteriales*, родов *Lactobacillus*, *Neisseria* и *Corynebacterium*, а также *Streptococcus salivarius*, *S. albicans*, *F. nucleatum*. При этом характер этих отношений зависел от наличия воспалительных изменений слизистой оболочки рта и, в свою очередь, влиял на развитие последних. Так, в отсутствие воспаления устойчивый синергизм проявляют *Corynebacterium* spp., *Lactobacillus* spp. и *S. salivarius*. В случае присоединения воспаления в ассоциации этих бактерий наблюдается внедрение *F. nucleatum* и вытеснение *S. salivarius*.

Заключение. Условно-патогенные микроорганизмы, формируя микробные ассоциации с разнонаправленными симбиотическими отношениями, могут увеличивать свою вирулентность, что, вероятно, позволяет им занимать свободные ниши в ротовой полости, а в последующем обеспечивать развитие патологического процесса воспалительного характера тканей протезного ложа.

Ключевые слова: симбиоз, микроорганизмы, воспаление, полость рта, полное отсутствие зубов, протезный стоматит

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Проведение клинико-экспериментальных исследований одобрено на заседании локального этического комитета ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера (протокол № 9 от 30.09.2021).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Шулятникова О.А., Яковлев М.В., Годовалов А.П. Оценка вклада симбиотических отношений микроорганизмов ротовой полости в развитие воспалительных изменений слизистой оболочки рта при полном отсутствии зубов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):512–519.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-524>

EDN: <https://www.elibrary.ru/ioeegb>

Evaluation of symbiotic relationships of oral microorganisms and their effect on the development of inflammatory changes of the oral mucosa in the complete absence of teeth

Oksana A. Shulyatnikova, Mikhail V. Yakovlev, Anatoly P. Godovalov✉

E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia

Abstract

Introduction. By fixing on the exposed surfaces of complete removable dentures and oral soft tissues, bacteria form a biofilm, thereby increasing their overall virulence and resistance. The microorganisms that make up the biofilm are often in a symbiotic relationship, which allows them to increase their pathogenic potential and cause the development of denture stomatitis. Accordingly, when a particular strain is present in the oral cavity, the risks of symbiosis are significantly increased.

The **aim** of the study was to evaluate the effect of symbiotic relationships of oral bacteria on the development of inflammatory changes in the oral cavity in the absence of teeth.

Materials and methods. Two groups of patients belonging to the elderly age according to WHO systematization (60–74 years) with complete absence of teeth (K08.1) were formed, differing in the presence of clinical manifestations of inflammation (82 men and 49 women). Biological material sampled from the oral cavity of patients was studied using the culture method and RT-PCR. To quantify the interaction between members of the microbiocenosis, we used the Jaccard similarity coefficient.

Results. Coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci, *Neisseria*, *Candida* spp., *Enterobacterales* and *F. nucleatum* were more frequently found in patients with complete absence of teeth. Expressed symbiotic relations between microorganisms of the *Enterobacterales* order, *Lactobacillus*, *Neisseria* and *Corynebacterium* genera, as well as *S. salivarius*, *C. albicans*, *F. nucleatum* were established. The nature of these relations depended on the presence of inflammatory changes in the oral mucosa and, in turn, influenced the development of the latter. Thus, in the absence of inflammation, *Corynebacterium*, *Lactobacillus* and *S. salivarius* showed stable synergism. In case of inflammation, the association between these bacteria was accompanied by the introduction of *F. nucleatum* and displacement of *S. salivarius*.

Conclusion. Thus, conditionally pathogenic microorganisms, forming microbial associations with multidirectional symbiotic relations increase their virulence, which allows them to occupy free niches in the oral cavity and subsequently trigger the development of pathological process of inflammatory character of prosthetic bed tissues.

Keywords: *symbiosis, microorganisms, inflammation, oral cavity, complete absence of teeth, denture stomatitis*

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the E.A. Vagner Perm State Medical University (protocol No. 9, September 30, 2021).

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Shulyatnikova O.A., Yakovlev M.V., Godovalov A.P. Evaluation of symbiotic relationships of oral microorganisms and their effect on the development of inflammatory changes of the oral mucosa in the complete absence of teeth. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(4):512–519.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-524>
EDN: <https://www.elibrary.ru/ioeegb>

Введение

Комплексный подход к стоматологическому лечению требует детальной диагностики патологий зубочелюстной системы. Лечение пациентов с полным отсутствием зубов в большинстве клинических случаев, кроме основного стоматологического заболевания, сопровождается рядом сопутствующих патологий, которые связаны с острым, подострым или хроническим воспалительным процессом в мягких тканях протезного ложа [1]. Развитие про-

тезных стоматитов обусловлено как общими, так и местными этиологическими факторами, зачастую способствующими быстрой хронизации патологического процесса. Среди таких факторов решающую роль играют представители микробиома ротовой полости.

В настоящее время различными авторами полость рта рассматривается как функционально и морфологически ограниченная экосистема, основной частью которой являются микроорганизмы

(МО) [2, 3]. При этом непосредственный контакт с внешней средой создаёт условия для закрепления обширного спектра транзитных микробов, многие из которых фиксируются на открытых тканях и в дальнейшем заселяют полость рта, входя в состав постоянной микробиоты биотопа [4, 5]. Следует отметить, что как различия в микроанатомии, влажности, подвижности и аэрации отдельных структур ротовой полости, так и наличие в ней стоматологических конструкций, пломб способствуют возникновению «комфортных» ниш для прикрепления и размножения условно-патогенных МО как с анаэробным, так и с аэробным типом метаболизма [6]. Последние, в свою очередь, обладают обширным спектром факторов патогенности, одним из которых является адгезионная способность. Фиксируясь на открытых поверхностях твёрдых и мягких тканей ротовой полости, а также искусственных твёрдых средах, бактерии формируют биоплёнку путём кооперации и сложного взаимодействия, за счёт чего повышаются их общая вирулентность и резистентность [7]. Такое пространственно-структурное объединение отдельных штаммов МО во внеклеточной полисахаридной матрице является основным фактором возникновения подавляющего спектра патологических процессов воспалительного характера, наблюдаемых в полости рта [8, 9]. Последние, в свою очередь, зачастую индуцированы экзо- и эндотоксинами, выделяемыми микробными клетками и представляющими собой активаторы опосредованного действия на макроорганизм. Опасность такой бактериальной экосистемы заключается не только в резистентности к большинству антибактериальных препаратов, но и в устойчивости к факторам клеточного и гуморального иммунитета макроорганизма, что особенно актуально для лиц пожилого возраста [10].

В середине 1970-х гг. с позиций клинической микробиологии была сформулирована «специфическая бляшечная теория», которая придерживается концепции моноэтиологичности инфекционно-воспалительных заболеваний [11]. В соответствии с данной теорией развитие воспалительного процесса должно быть связано с присутствием или относительным преобладанием либо в составе биоплёнки, либо в планктонном состоянии одного этиологически значимого вида МО. Однако, в силу высокой обсеменённости ротовой полости и наличия «комфортных» условий для формирования бактериаль-

ных плёнок, доктрины, описанные выше, несколько теряют свою актуальность.

Подтверждено [12, 13] не только значение бактериального состава биоплёнок, формирующихся в полости рта на поверхности твёрдых тканей зубов и элементов стоматологических конструкций, в развитии патологий слизистой оболочки (СО) ротовой полости воспалительного характера, но и количества зубного налёта, а также времени его пребывания в непосредственном контакте с мягкими тканями рассматриваемого биотопа.

В силу формирования тесного пространственно-структурного объединения бактерии, входящие в состав биоплёнки, зачастую находятся в симбиотических отношениях, что позволяет им увеличивать свой патогенный потенциал. При этом внедрение в такой симбиоз какого-либо вида МО может существенно менять направленность симбиотических отношений, так и влиять на проявления клинической картины. Представляет интерес изучение характера взаимодействия МО полости рта при наличии и в отсутствие воспалительного процесса.

Цель исследования — оценить вклад симбиотических отношений МО ротовой полости в развитие воспалительных изменений СО рта при полном отсутствии зубов.

Материалы и методы

Основой для формирования групп пациентов для исследования являлась оценка состояния тканевой протезной ложа при полном отсутствии зубов. В исследование вошли лица, относящиеся, согласно систематизации Всемирной организации здравоохранения, к пожилому возрасту (60–74 года; **табл. 1**).

С целью установления изменения межвидовых отношений МО ротовой полости при наличии/отсутствии воспалительных изменений тканей протезной ложа проводили разделение пациентов на две группы. Первая группа ($n = 66$) включала пациентов, пользующихся ранее изготовленными полными съёмными пластиночными протезами из акриловой пластмассы Этакрил-02 в течение не менее 6 мес до момента обследования, прошедших период адаптации и не имеющих клинических признаков воспалительных явлений со стороны СО рта и пародонта. Вторая группа ($n = 65$) включала лиц, пользующихся полными съёмными пластиночными протезами из акриловой пластмассы Этакрил-02 в

Таблица 1. Состав групп исследования

Table 1. Study group composition

Участники Participants	1-я группа Group 1		2-я группа Group 2	
	<i>n</i>	возраст, лет age, years	<i>n</i>	возраст, лет age, years
Мужчины Males	40	64,3 ± 1,2	42	66,1 ± 1,1
Женщины Females	26	65,7 ± 1,4	23	64,8 ± 1,5

течение не менее 6 мес до момента исследования, прошедших период адаптации, при объективном клиническом обследовании у которых выявлены признаки воспаления мягких тканей протезного ложа (хронический протезный стоматит), бактериальный генез которого подтверждён результатами микробиологического анализа.

Проведение клинко-экспериментальных исследований одобрено на заседании локального этического комитета ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера (протокол № 9 от 30.09.2021).

Материал для исследования получали с СО протезного ложа в области вершины альвеолярного отростка верхней челюсти (проекция 1-го, 2-го премоляров на верхней челюсти — с учётом выхода протока околоушной слюнной железы) с помощью тампон-зонда и транспортной среды Amies. После предварительного разведения материала осуществляли посев содержимого на кровяной агар, среды Эндо и Сабуро, селективные среды для выделения стрептококков. Инкубацию осуществляли при температуре 37°C, во влажной атмосфере в микроаэро-

фильных условиях. Выделенные штаммы идентифицировали по культуральным, тинкториальным и биохимическим признакам.

Проведены выявление и количественная оценка ДНК возбудителей заболеваний пародонта с использованием набора реагентов «Дентоскрин» (НПФ «Литех») посредством полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в реальном времени в биологическом материале.

Для количественного выражения взаимодействия между членами микробиоценоза использовали коэффициент сходства Жаккара (q), рассчитываемый по формуле:

$$q = c / (a + b - c) \times 100,$$

где a — число наблюдений с видом a ; b — число наблюдений с видом b ; c — число наблюдений, содержащих оба вида МО.

При $q \leq 30\%$ условия в биотопе антагонистические, при q от 30 до 70% бактерии способны к сосуществованию, а их экологическая общность велика

Таблица 2. Частота встречаемости МО в СО рта в области протезного ложа у пациентов (% случаев)

Table 2. Frequency of MO detection in the oral mucosa in the denture bed of patients (% of cases)

МО	1-я группа Group 1 (n = 66)	2-я группа Group 2 (n = 65)	p между группами p between groups
<i>Staphylococcus</i> spp.	95,5	98,5	0,32
Коагулазоположительные стафилококки Coagulase-positive staphylococci	33,3	76,9	0,19
в том числе: including:			
<i>S. aureus</i>	45,5	66,0	0,001
<i>S. intermedius</i>	4,5	32,0	0,001
<i>S. hyicus</i>	50,0	2,0	0,003
Коагулазоотрицательные стафилококки Coagulase-negative staphylococci	98,9	75,4	0,001
<i>Streptococcus</i> spp.	83,3	50,8	0,001
<i>S. salivarius</i>	33,3	6,2	0,001
<i>S. pyogenes</i>	15,2	52,3	0,001
<i>Neisseria</i> spp.	48,5	53,8	0,54
<i>Candida</i> spp.	46,9	78,5	0,001
в том числе: including:			
<i>C. albicans</i>	48,4	39,2	0,3
<i>Enterobacterales</i>	66,7	50,8	0,065
в том числе: including:			
<i>E. coli</i>	11,4	45,5	0,027
<i>Klebsiella</i> spp.	25,0	51,5	0,19
<i>Enterobacter</i> spp.	47,7	48,5	0,36
<i>Lactobacillus</i> spp.	33,3	55,4	0,012
<i>Corynebacterium</i> spp.	34,8	49,2	0,096
<i>Enterococcus</i> spp.	18,2	26,2	0,27
<i>F. nucleatum</i>	28,8	76,9	0,001
<i>T. denticola</i>	0	0	

(синергизм), при $q \geq 70\%$ возможно только совместное существование бактерий (состояние, близкое к мутуализму).

Статистический анализ данных осуществляли с помощью четырёхпольных таблиц сопряжённости и χ^2 -критерия.

Результаты

Характерными особенностями микробиоты полости рта пациентов с полным отсутствием зубов являлось большое разнообразие видов МО и сложные взаимоотношения между ними в составе микробных ассоциаций. Так, у пациентов с полным отсутствием зубов в микробиоте значительную долю составляли коагулазоотрицательные и коагулазоположительные *Staphylococcus* spp., не относящиеся к виду *S. aureus*, а также *Neisseria* spp., дрожжевые грибы рода *Candida*, *Enterobacterales* и *Fusobacterium nucleatum* (табл. 2). Из представителей порядка *Enterobacteriaceae* зачастую обнаруживали представителей родов *Klebsiella* spp. и *Enterobacter* spp. Среди комменсальных видов *Streptococcus* spp. доминировали штаммы с более широким набором факторов патогенности — *S. pyogenes*.

Согласно проведённому исследованию, развитие воспалительных осложнений со стороны СО в области протезного ложа у пациентов с полным отсутствием зубов соответствовало колонизации биотопа коагулазоположительными видами рода *Staphylococcus*, увеличением доли *S. pyogenes* и снижением — *S. salivarius*, повышением встречаемости дрожжевых грибов рода *Candida* и *Escherichia coli*. Кроме этого, выявлено, что с наличием протезного стоматита ассоциирована более частая детекция маркеров *F. nucleatum*.

В настоящем исследовании в моноварианте не выделено ни одного штамма МО, а минимальное число участников ассоциаций составило не менее 3. При этом значимой разницы по числу ассоциантов в микросимбиозах среди сравниваемых групп не установлено. При оценке парных отношений по коэффициенту Жаккара обнаружены выраженные симбиотические связи между МО порядка

Enterobacterales, родов *Lactobacillus*, *Neisseria* и *Corynebacterium*, а также *S. salivarius*, *C. albicans*, *F. nucleatum*. При этом характер этих отношений зависел от наличия воспалительных изменений СО рта. Среди коагулазоотрицательных стафилококков, населяющих ротовую полость пациентов 2-й группы, отмечено, что *S. epidermidis* проявляют способность к сосуществованию с *S. pyogenes* ($q = 50$), а *S. schleiferi* — с бактериями рода *Lactobacillus* ($q = 50$). В 1-й группе коагулазоотрицательные стафилококки проявляли антагонистические свойства по отношению к *E. coli*, *S. mitis* и *Neisseria* spp.

Характерными симбионтами для СО полости рта пациентов 1-й группы являются *Corynebacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. при активном участии *S. salivarius* (рис. 1), которые встречаются в подавляющем большинстве случаев, а между ними и *S. salivarius* формируются мутуалистические взаимоотношения ($q > 70$). Формирование такой ассоциации позволяет участникам оказывать антагонистическое действие на представителей порядка *Enterobacterales*, наиболее часто встречаемых при сухости СО ротовой полости [14]. Негативным моментом у пациентов 1-й группы следует признать стойкую экологическую общность между *Corynebacterium* spp. и *Fusobacterium* spp. ($q = 75$), что может быть обусловлено синтрофией этих бактерий. Так, *Corynebacterium* spp. синтезируют ряд свободных жирных кислот, необходимых для *Fusobacterium* spp., которые, в свою очередь, облегчают доступность аминокислот *Corynebacterium* [15]. Ассоциации этих видов, по данным некоторых авторов, наиболее часто регистрируются при плоскоклеточном раке ротовой полости [16].

В 46,9% случаев у пациентов 1-й группы обнаружены дрожжевые грибы рода *Candida*, которые проявляли синергизм с *Neisseria* spp. ($q = 42,4$) и *Enterobacterales* ($q = 63,6$). *Neisseria* spp., вероятно, в этом сообществе приспособились к сосуществованию с кандидами, поскольку грибы являются уникальными биохимическими преобразователями, и продукты такого метаболизма удобны для использования *Neisseria* spp. [17]. Синергизм между грибами рода *Candida* и представителями поряд-

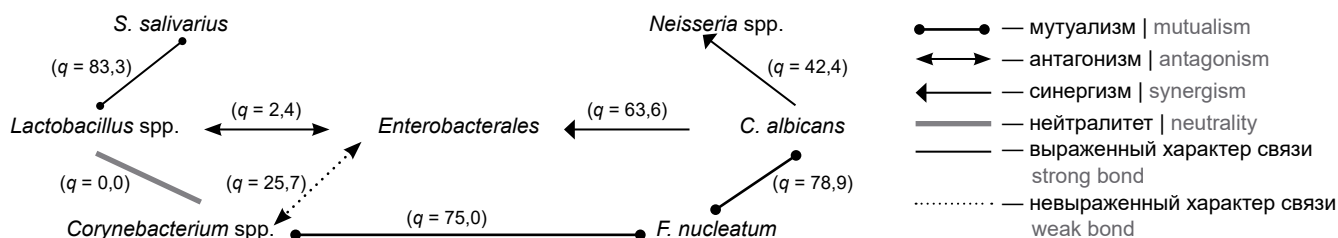


Рис. 1. Характер симбиотических отношений МО ротовой полости пациентов 1-й группы.

Fig. 1. The nature of the symbiotic relationship of the oral MOs of group 1 patients.

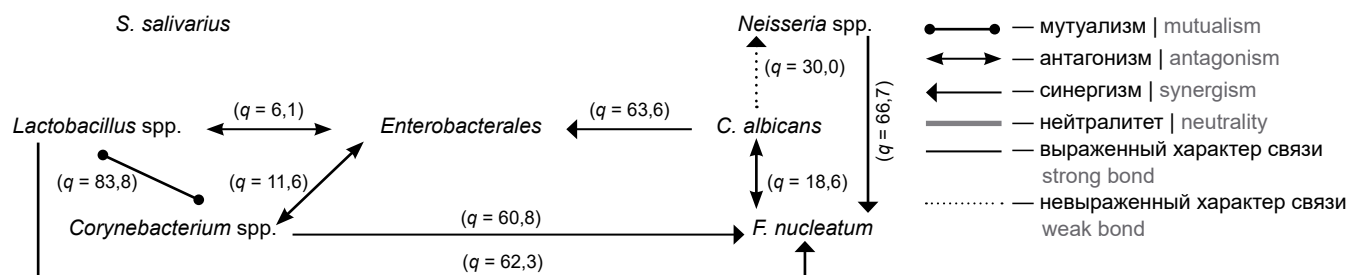


Рис. 2. Характер симбиотических отношения МО ротовой полости пациентов 2-й группы.

Fig. 2. Nature of symbiotic relationship of oral MOs of group 2 patients.

ка *Enterobacterales* обусловлен в большей степени усилением резистентности к антимикробным препаратам [18].

Установлено, что штаммы *S. salivarius*, изолированные у пациентов 1-й группы, проявляют выраженные (вплоть до мутуалистических) симбиотические взаимоотношения с *Lactobacillus*, продуцирующими молочную кислоту. Однако, как показано в исследовании [19], бактериоцины *Streptococcus* spp. могут подавлять продукцию этого метаболита *Lactobacillus* spp.

S. salivarius, проявляющие выраженные (вплоть до мутуалистических) симбиотические взаимоотношения с *Lactobacillus* spp. в 1-й группе, не принимают участия в формировании стойкой ассоциации МО при полном отсутствии зубов и присоединении воспаления (рис. 2). Такая ситуация приводит к формированию синергизма не только между *Corynebacterium* spp. и *Fusobacterium* spp. (q = 60,8), но и между *Lactobacillus* spp. и *Fusobacterium* spp. (q = 62,3), что указывает на более тесное внедрение *Fusobacterium* spp. в микробиоценоз ротовой полости и требует комплексного таргетированного подхода к антибактериальной обработке ротовой полости перед протезированием.

Синергизм между представителями порядка *Enterobacterales*, грибами рода *Candida* и *Neisseria* spp. (q = 30–70) у пациентов 2-й группы сохраняется и приводит к вытеснению *S. salivarius*. Кроме того, *F. nucleatum* формирует более разнонаправленные связи, чем штаммы этого же вида, выделенные от пациентов 1-й группы. Так, если у пациентов 1-й группы между *Fusobacterium* spp. и *Neisseria* spp. выявлен нейтралитет, то у пациентов 2-й группы эти виды проявляют синергизм (q = 66,7). Характер взаимоотношений в паре *Fusobacterium* spp. и *C. albicans* меняется в случае воспалительных изменений СО на антагонистические (q = 18,6), что, на первый взгляд, кажется не логичным, но вполне объяснимо тем, что при антагонистических отношениях между бактериями меняется спектр их метаболитов, что отражается на клинической картине. Антагонистические отношения между бактериями порядка *Enterobacterales* и рода *Lactobacillus* сохраняются у пациентов как с клиническими маркерами

воспалительного процесса, так и без них.

Обсуждение

Микробиом ротовой полости населён представителями более чем 300 видов только бактериальных таксонов. При этом внутри такой системы формируются сложные взаимоотношения между отдельными участниками ассоциаций, зачастую не всегда относящиеся к мутуалистическим или синергичным. Для изучения взаимоотношения бактерий предложены разные методики, которые, однако, характеризуются сложностью воспроизведения и трудностью интерпретации. В настоящем исследовании предложено использовать индексный подход, основанный на коэффициенте Жаккара, который позволяет выявить не только направленность связи, но и отчасти её выраженность.

Среди всех МО полости рта следует выделить *S. salivarius*, который относится к автохтонным симбионтам этого биотопа. Показано, что этот вид обладает выраженной антимикробной и антибиоплёточной активностью [20], что и было подтверждено в настоящем исследовании, когда у пациентов без воспалительных изменений СО этот вид усиливает антагонистические свойства за счёт *Lactobacillus* spp. и *Corynebacterium* spp. Однако в случае присоединения воспалительных изменений, которые, вероятно, обусловлены изменениями в микробиоме ротовой полости, наблюдается почти полное вытеснение этого вида *Streptococcus* spp.

По результатам проведённого исследования, представителями порядка *Enterobacterales* являются аллохтонными микробами, сохраняющими антагонистический характер взаимоотношений с автохтонными МО (*Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp.) и синергизм с дрожжевыми грибами рода *Candida* как при отсутствии клинических проявлений воспалительного процесса (протезного стоматита), так и при их наличии. Подобная картина свидетельствует о том, что бактерии с широким набором факторов патогенности и, соответственно, более выраженной вирулентностью (например, *Enterobacterales*), не характерные для ротовой полости, путём фиксации на конструкционном материале съёмных зубных протезов занимают свободные ниши, а в

последующем, при снижении активности иммунной системы, плохой гигиене или действии других провоцирующих факторов, именно эти таксоны обеспечивают развитие в мягких тканях протезного ложа процесса воспалительного характера, совместно с автохтонными условно-патогенными МО (*Candida* spp. и др.). В то же время смена направленности отношений между *Enterobacteriales* и *F. nucleatum* с мутуалистических на антагонистические при наличии воспалительных явлений тканей протезного ложа у пациентов с полным отсутствием зубов, вероятно, будет коррелировать с ухудшением клинической картины при обнаружении ассоциации данных МО.

Заключение

Полученные результаты позволяют считать *S. pyogenes*, *E. coli*, *F. nucleatum* и *Candida* spp. инициаторами патологических изменений воспалительного характера со стороны мягкотканного пародонта у лиц, эксплуатирующих полные съёмные пластиночные протезы с базисом из акрилового полимера Этакрил-02. Условно-патогенные МО, формируя микробные ассоциации с разнонаправленными симбиотическими отношениями, могут увеличивать свою вирулентность, что позволяет им занимать свободные ниши в ротовой полости, а в последующем обеспечивать развитие патологического процесса воспалительного характера тканей протезного ложа.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Арутюнов С.Д., Грачев Д.И., Мартыненко А.В. Медико-социальная работа с лицами пожилого и старческого возраста с полной утратой зубов. *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*. 2021;29(3):509–13. Arutyunov S.D., Grachev D.I., Martynenko A.V. The medical social work with individuals of elderly and senile age with total loss of teeth. *Problems of Social Hygiene, Public Health and History of Medicine*. 2021;29(3):509–13. DOI: <https://doi.org/10.32687/0869-866X-2021-29-3-509-513> EDN: <https://elibrary.ru/atnenu>
2. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2011;88(3):99–109. Romanova Yu.M., Gintsburg A.L. Bacterial biofilms as a natural form of existence of bacteria in the environment and host organism. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2011;88(3):99–109. EDN: <https://elibrary.ru/rsyplj>
3. Arweiler N.B., Netuschil L. The oral microbiota. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016;902:45–60. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-31248-4_4
4. Вечеркина Ж.В., Шалимова Н.А., Чиркова Н.В. и др. Анализ этиопатогенеза дисбиоза в стоматологии (обзор литературы). *Вестник новых медицинских технологий*. 2020;27(3):11–9. Vecherkina Zh.V., Shalimova N.A., Chirkova N.V., et al. Analysis of etiopathogenesis of dysbiosis in (literature review). *Journal of New Medical Technologies*. 2020;27(3):11–9. DOI: <https://doi.org/10.24411/1609-2163-2020-16684> EDN: <https://elibrary.ru/xrebnl>
5. Zhang Y., Wang X., Li H., et al. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomed. Pharmacother.* 2018;99: 883–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.146>
6. Царев В.Н., Ипполитов Е.В., Трефилов А.Г. и др. Особенности адгезии анаэробных пародонтопатогенных бактерий и грибов *Candida albicans* к экспериментальным образцам базисной стоматологической пластмассы в зависимости от шероховатости поверхности и способа полировки. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2014;91(6):21–7. Tsarev V.N., Ippolitov E.V., Trefilov A.G. Features of adhesion of anaerobic periodontopathogenic bacteria and *Candida albicans* fungi to experimental samples of basis dental plastic depending on surface roughness and polishing method. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2014;91(6):21–7. EDN: <https://elibrary.ru/tucmgf>
7. Marsh P.D., Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *J. Clin. Periodontol.* 2017;44(Suppl. 18):12–22. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12679>
8. Дзампаева Ж.В. Особенности этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017;24(5):103–10. Dzampaeva Zh.V. Etiology and pathogenesis features of inflammatory periodontal diseases. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2017;24(5):103–10. DOI: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2017-24-5-103-110> EDN: <https://elibrary.ru/zsjalb>
9. Фукс Е.И., Карева Ю.А., Гализина О.А., Таболина Е.С. Современные аспекты этиологии и патогенеза заболеваний пародонта. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2013;21(3):153–60. Fuks E.I., Kareva Yu.A., Galizina O.A., Tabolina E.S. Modern aspects of etiology and pathogenesis of diseases of parodont. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2013;21(3):153–60. EDN: <https://elibrary.ru/rkxtmn>
10. Морозов А.М., Сергеев А.Н., Кадыков В.А. и др. О развитии антибиотикорезистентности в аспекте поликлинической службы. *Вестник современной клинической медицины*. 2021;14(5):43–50. Morozov A.M., Sergeev A.N., Kadykov V.A., et al. Development of antibiotic resistance in the aspect of outpatient services. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2021;14(5):43–50. DOI: [https://doi.org/10.20969/VSKM.2021.14\(5\).43-50](https://doi.org/10.20969/VSKM.2021.14(5).43-50) EDN: <https://elibrary.ru/lgswwr>
11. Варшакидзе К.А., Гулам А., Камчибекова Н.Т., Касымханов И.Б. Золотистый стафилококк как причина развития заболеваний слизистой оболочки полости рта и влияние антибиотикотерапии. *Forcipe*. 2020;3(S1):772–3. Varshakidze K.A., Gulam A., Kamchibekova N.T., Kasymakhunov I.B. *Staphylococcus aureus* as a cause of diseases of the oral mucosa and the effect of antibiotic therapy. *Forcipe*. 2020;3(S1):772–3. EDN: <https://elibrary.ru/jtkehr>
12. Арутюнов С.Д., Царев В.Н., Ипполитов Е.В. и др. Формирование биопленки на временных зубных протезах: соотношение процессов первичной микробной адгезии, коагрегации и колонизации. *Стоматология*. 2012;91(5-1):5–10. Arutyunov S.D., Tsarev V.N., Ippolitov E.V., et al. Biofilm formation on temporary dentures: correlation of primary adhesion, coaggregation and colonization. *Stomatology*. 2012;91(5-1):5–10. EDN: <https://elibrary.ru/puafwr>
13. Афанасьев В.В., Арутюнов С.Д., Деев М.С. и др. Клинико-микробиологические аспекты формирования микробной биопленки на конструкционных материалах, используемых для починки и перебазировки съёмных зубных протезов. *Российский стоматологический журнал*. 2015;19(2):44–6. Afanasyeva V.V., Arutyunov D.S., Deev M.S., et al. Clinical and microbiological aspects of the formation of microbial bio-films on the structural materials used for repair and rebazirovka removable dentures. *Russian Journal of*

- Dentistry*. 2015;19(2):44–6.
EDN: <https://elibrary.ru/twjwur>
14. Leung W.K., Jin L.J., Yam W.C., Samaranayake L.P. Oral colonization of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods and cocci in irradiated, dentate, xerostomic individuals. *Oral Microbiol. Immunol.* 2001;16(1):1–9.
DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1399-302x.2001.160101.x>.
15. Treerat P., Redanz U., Redanz S., et al. Synergism between *Corynebacterium* and *Streptococcus sanguinis* reveals new interactions between oral commensals. *ISME J.* 2020;14(5):1154–1169.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0598-2>
16. Григорьевская З.В., Терещенко И.В., Казимов А.Э. и др. Микробиота полости рта и ее значение в генезе рака оророфарингеальной зоны. *Злокачественные опухоли*. 2020;10(3S1):54–9. Grigor'evskaya Z.V., Tereshchenko I.V., Kazimov A.E., et al. The microbiota of the oral cavity and its significance in the genesis of cancer of the oropharyngeal zone. *Malignant Tumours*. 2020;10(3S1):54–9.
DOI: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2020-10-3s1-54-59>
EDN: <https://elibrary.ru/zjbyge>
17. Donati C., Zolfo M., Albanese D., et al. Uncovering oral *Neisseria tropism* and persistence using metagenomic sequencing. *Nat. Microbiol.* 2016;1(7):16070.
DOI: <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.70>
18. Mishra K., Bukavina L., Ghannoum M. Symbiosis and dysbiosis of the human mycobiome. *Front. Microbiol.* 2021;12:636131.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.636131>
19. Gönczi N.N., Strang O., Bagi Z., et al. Interactions between probiotic and oral pathogenic strains. *Biol. Futur.* 2021;72(4):461–71.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s42977-021-00091-3>
20. Stašková A., Sondorová M., Nemcová R., et al. Antimicrobial and antibiofilm activity of the probiotic strain *Streptococcus salivarius* K12 against oral potential pathogens. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(7):793.
DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070793>

Информация об авторах

Шулятникова Оксана Александровна — д.м.н., доцент каф. ортопедической стоматологии Пермского государственного медицинского университета им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2033-5903>

Яковлев Михаил Владимирович — к.м.н., врач стоматолог-ортопед Городской стоматологической поликлиники, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2895-387X>

Годовалов Анатолий Петрович[✉] — к.м.н., доцент, доцент каф. микробиологии и вирусологии, в.н.с. Центральной научно-исследовательской лаборатории Пермского государственного медицинского университета им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, agodovalov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>

Участие авторов: Шулятникова О.А., Годовалов А.П., Яковлев М.В. — сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, концепция и дизайн исследования, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 15.04.2024;
принята к публикации 21.06.2024;
опубликована 29.08.2024

Information about the authors

Oksana A. Shulyatnikova — D. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of orthopedic dentistry, E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2033-5903>

Mikhail V. Yakovlev — Cand. Sci. (Med.), orthopedic dentist, City Dental Polyclinic, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2895-387X>

Anatoly P. Godovalov[✉] — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of microbiology and virology, research assistant, Central Research Laboratory, E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia, agodovalov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>

Author contribution: Shulyatnikova O.A., Godovalov A.P., Yakovlev M.V. — collection and processing of material, statistical processing, writing the text, concept and design of the study, editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 15.04.2024;
accepted for publication 21.06.2024;
published 29.08.2024

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-527>



Сравнительный анализ структуры регуляторных генов штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара EI Tor

Плеханов Н.А.[✉], Федоров А.В., Челдышова Н.Б., Кураташвили А.Ю., Заднова С.П.

Российский противочумный институт «Микроб», Саратов, Россия

Аннотация

Актуальность. Экспрессия генов *ctxAB* и *tcpA-F*, кодирующих основные факторы патогенности возбудителя холеры, контролируется регуляторными генами, структура которых в штаммах возбудителя, выделенных в разные годы текущей пандемии, изучена не в полной мере.

Цель работы — сравнительный анализ структуры регуляторных генов в штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара EI Tor, изолированных на территории России и сопредельных стран на протяжении 7-й пандемии холеры.

Материалы и методы. Использовали нуклеотидные последовательности полных геномов 29 токсигенных штаммов, выделенных с 1970 по 2023 г. Анализ проводили с помощью программ «BioEdit v7.2.6.1» и «Blast».

Результаты. Проведён анализ 10 регуляторных генов (*toxT*, *aphA*, *aphB*, *hns*, *hapR*, *vieA*, *luxO*, *luxT*, *carS*, *carR*). Установлено, что практически у всех штаммов в гене *hapR* имеется вставка тимина в позиции 219. Исключение составил *V. cholerae* M3208 (Тамбов, 2023), у которого обнаружена вставка 5 нуклеотидов в данном гене. У 44,8% изученных штаммов выявлены мутации в гене *luxO*, функциональное значение которых не установлено. У 46,7 и 33,3% изученных геновариантов с аллелем *ctxB1* обнаружены несинонимичные замены в генах *hns* (G319A) и *vieA* (C235T) соответственно. Все геноварианты с аллелем *ctxB7* имеют гены *hns* и *vieA* с мутациями. Три геноварианта с аллелем *ctxB7*, завезённые в Россию в последние годы, содержат изменённую структуру гена *carR* (G265A).

Заключение. Структура генов (*toxT*, *aphA*, *aphB*, *carS*, *luxT*, *hapR*) является интактной у большинства изученных штаммов *V. cholerae* O1 EI Tor. В то же время выявлена вариабельность генов *hns* (G319A), *vieA* (C235T) и *carR* (G256A). Мутации в данных генах могут быть использованы в качестве генетических меток современных геновариантов *V. cholerae* O1 EI Tor.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, геноварианты, структура регуляторных генов, мутации

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Плеханов Н.А., Федоров А.В., Челдышова Н.Б., Кураташвили А.Ю., Заднова С.П. Сравнительный анализ структуры регуляторных генов штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара EI Tor. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):520–529.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-527>

EDN: <https://www.elibrary.ru/fjzedx>

Original Study Article
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-527>

Comparative analysis of the structure of regulatory genes of *Vibrio cholerae* serotype O1 biotype EI Tor strains

Nikita A. Plekhanov[✉], Andrey V. Fedorov, Nadezhda B. Cheldyshova, Alina Yu. Kuratashvili, Svetlana P. Zadnova

Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia

Abstract

Introduction. The expression of the *ctxAB* and *tcpA-F* genes encoding the main pathogenicity factors of the *Vibrio cholerae* is controlled by regulatory genes. The structure of these genes has not been fully studied in the pathogen strains isolated during different periods of the current pandemic.

The aim of the study was a comparative analysis of the structure of regulatory genes of *V. cholerae* O1 biovar El Tor strains isolated on the territory of the Russian Federation and neighboring countries during the seventh cholera pandemic.

Materials and methods. The nucleotide sequences of the complete genomes of 29 toxigenic strains isolated from 1970 to 2023 were analyzed. The analysis was carried out using BioEdit v7.2.6.1 software and Blast tool.

Results. The analysis of ten regulatory genes (*toxT*, *aphA*, *aphB*, *hns*, *hapR*, *vieA*, *luxO*, *luxT*, *carS*, *carR*) was carried out. Almost all strains were found to have a thymine insertion in the *hapR* gene at position 219. The exception was *V. cholerae* strain M3208 (Tambov, 2023), which had an insertion of five nucleotides in this gene. Mutations of the *luxO* gene with an unknown effect were detected in 44.8% of the studied strains. In 46.7% and 33.3% of the studied genetic variants carrying the *ctxB1* allele, non-synonymous substitutions were detected in the *hns* (G319A) and *vieA* (C235T) genes, respectively. All genetic variants with the *ctxB7* allele have mutations in both the *hns* and *vieA* genes. Three genetic variants with the *ctxB7* allele, imported to the Russian Federation in recent years, contain an altered structure of the *carR* gene (G265A).

Conclusion. The structure of genes (*toxT*, *aphA*, *aphB*, *carS*, *luxT*, *hapR*) of *V. cholerae* O1 El Tor strains remains unchanged for the majority of the studied isolates. At the same time, variability in the *hns* (G319A), *vieA* (C235T) and *carR* (G256A) genes was detected. Mutations in these genes can be used as genetic markers of modern *V. cholerae* O1 El Tor genetic variants.

Keywords: *Vibrio cholerae*, genetic variants, regulatory gene structure, mutations

Funding source. The authors declare no external funding for the study.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this manuscript.

For citation: Plekhanov N.A., Fedorov A.V., Cheldyshova N.B., Kuratashvili A.Yu., Zadnova S.P. Comparative analysis of the structure of regulatory genes of *Vibrio cholerae* serotype O1 biotype El Tor strains. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(4):520–529.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-527>

EDN: <https://www.elibrary.ru/fjzedx>

Введение

Холера — особо опасная инфекционная болезнь, вызываемая токсигенными штаммами *Vibrio cholerae*, остается серьезной проблемой здравоохранения во многих странах Азии, Африки, Америки (регион Карибского бассейна). Ежегодно регистрируется около 2,9 млн случаев холеры, из которых более 95 000 заканчиваются летально. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, с середины 2021 г. отмечается рост заболеваемости и смертности от данной болезни¹. Так, средний показатель летальности в 2021 г. составил 1,9% (в странах Африки — 2,9%), что является самым высоким за последнее десятилетие, и данная тенденция сохранилась в 2022–2023 гг. Остаётся высоким риск завоза возбудителя в любую страну мира [1].

Текущая, 7-я, пандемия холеры является самой длительной (продолжается уже более 60 лет) и включает несколько линий штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor с определённой структурой генов *ctxAB* и *tcpA-F*, кодирующих основные факторы патогенности возбудителя холеры — холерный токсин (ХТ) и токсин-корегулируемые пили адгезии (ТКПА) [3, 4]. Начало пандемии было вызвано типичными штаммами *V. cholerae* O1 биовара El Tor, содержащими аллели *ctxB3* и *tcpA^{eltor}*. В 1990-х гг. появились генетически изменённые варианты *V. cholerae* O1 биовара El Tor (геноварианты), кото-

рые отличались от типичных штаммов повышенной продукцией ХТ в результате замены аллеля *ctxB3* на *ctxB1*, характерного для возбудителя 6-й пандемии — *V. cholerae* O1 классического биовара. Дальнейшие эволюционные преобразования геновариантов способствовали появлению «гипервирулентных» штаммов, которые не только имеют новые аллели *ctxB* — *ctxB7* и *tcpA* — *tcpA^{cirs101}*, но и включают около 70 генов с единичными нуклеотидными заменами, а также делеции в мобильных генетических элементах [2–6]. При этом рядом авторов показано, что повышение вирулентности геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor связано с изменением структуры основных генов патогенности (*ctxB* и *tcpA*), другими — с появлением мутаций в структуре ряда регуляторных генов [6–8]. Как известно, экспрессия генов *ctxAB* и *tcpA-F* контролируется сложным регуляторным каскадом с участием различных положительных и отрицательных факторов транскрипции, а также зависит от плотности бактериальной популяции, сигналов внешней среды (температура, соли желчных кислот, рН среды, осмоляемость и т.д.) и продуцируемых сигнальных молекул (в том числе 3',5'-циклического дигуанинмонофосфата, c-di-GMP). Непосредственным транскрипционным активатором генов *ctxAB* и *tcpA-F* является белок ToxT, продукция которого контролируется белком ToxR, играющим важную роль в вирулентности холерного вибриона. Для активации транскрипции *toxT* белок ToxR взаимодействует с другими белками — ToxS и TcpPH. В свою очередь транскрипция

¹ Cholera – Global situation. WHO Report; 2023. URL: <https://who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON437>

генов *tcpPH* зависит от белков AphAB. Показано, что активная экспрессия AphAB происходит при низкой плотности бактериальной популяции. В данных условиях фосфорилированный белок системы «quorum sensing» LuxO ингибирует экспрессию quorum-чувствительного регуляторного белка HarR (оказывающего негативное влияние на каскад вирулентности) — происходит продукция ХТ и ТКПА [9, 10]. Кроме AphA с промотером *tcpP* при нахождении патогена *in vivo* связывается и белок CarR, действующий совместно с CarS, что способствует увеличению колонизирующей способности штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor. Кроме того, в присутствии катионных антимикробных пептидов (HD-5, α -дефензин, β -дефензин), продуцируемых эпителиальными клетками, CarR непосредственно регулирует экспрессию генов, кодирующих систему модификации липида А липополисахарида клеточной стенки (оперон *almEFG*), что придаёт устойчивость бактерий к катионным пептидам и обеспечивает нормальный рост вибрионов в кишечнике. Таким образом, белок CarR регулирует вирулентность возбудителя и способствует устойчивости патогена в макроорганизме [11].

При увеличении количества бактерий фосфорилирование LuxO не происходит, и он не блокирует *hapR*. Продуцируемый белок HarR подавляет транскрипцию *aphAB* и *tcpPH*. В итоге прекращается биосинтез факторов вирулентности [9, 10]. Кроме LuxO, транскрипцию *hapR* репрессирует и недавно обнаруженный у патогена белок LuxT, который также непосредственно связывается с промоторной областью *hapR* [11]. Негативным регулятором транскрипции генов *ctxAB* и *tcpA-F* является и ДНК-связывающий гистонподобный белок H-NS, который репрессирует транскрипцию *toxT*, а также блокирует транскрипцию генов *ctxAB* и *tcpA*, связываясь с той же областью ДНК, что и белок ToxT [12]. Ещё одним белком, участвующим в регуляции продукции факторов вирулентности, посредством контроля содержания вторичного мессенджера c-di-GMP (cyclic diguanosine monophosphate), является VieA, кодируемый геном *vieA* из оперона *vieSAB*. Транскрипция гена *vieA* в клетках подавляется как белком H-NS, так и HarR. Данный белок содержит ДНК-связывающий участок, а также домен (EAL) с дигуанилат-фосфодиэстеразной активностью, гидролизующий c-di-GMP. Накапливаясь в клетках в высокой концентрации, c-di-GMP ингибирует транскрипцию генов *ctxAB* и *toxT*, и деградация этой молекулы способствует увеличению биосинтеза ХТ и ToxT [13].

Также стоит отметить, что регуляторные гены, контролируемые не только вирулентные, но и другие свойства бактерий (в том числе формирование биоплёнки), выступают в качестве перспективных мишеней для создания антимикробных препаратов

нового поколения. В настоящее время проводятся исследования по поиску и синтезу антимикробных пептидов, способных снижать вирулентность возбудителя холеры и разрушать образование биоплёнок без токсического воздействия на макроорганизм. При этом перспективной мишенью выбран белок LuxO [14].

Таким образом, структура генов *ctxB* и *tcpA* у геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, завезённых в разные годы на территорию России и сопредельных стран, достаточно подробно изучена [15–18]. В то же время распространённость мутаций в регуляторных генах в данных штаммах исследована фрагментарно. **Цель работы** — сравнительный анализ структуры регуляторных генов в штаммах *V. cholerae* O1 биовара El Tor, изолированных на территории России и сопредельных стран на протяжении 7-й пандемии холеры.

Материалы и методы

В работе использовали полногеномные последовательности 29 токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, завезённых с 1970 по 2023 г. на территорию России и сопредельных стран, депонированные в NCBI GenBank и в VGARus (штаммы M3208 и M3210). Характеристика использованных штаммов приведена в **таблице**.

Штаммы хранились в лиофильно высушенном состоянии в Государственной коллекции патогенных бактерий Российского противочумного института «Микроб». Для культивирования бактерий использовали бульон и агар LB (pH 7,2). Подготовку проб осуществляли согласно МУ 1.3.2569-09². Подготовку образцов ДНК исследуемых штаммов проводили в боксе биологической безопасности II класса в противочумном костюме IV типа с использованием набора «TransGen EasyPure Genomic DNA Kit» в соответствии с протоколом производителя. Секвенирование ДНК осуществляли на платформе «DNBSEQ-G50» («MGI Tech») с использованием стандартного протокола подготовки ДНК-библиотек, соответствующего платформе.

Анализ структуры регуляторных генов *toxT*, *aphA/aphB*, *hns*, *hapR*, *vieA*, *luxO/luxT*, *carR/carS* проводили с помощью программы «BioEdit v7.2.6.1» и алгоритма «BLAST v2.15.0 NCBI GenBank».

Результаты

На первом этапе работы была изучена структура гена *toxT*, кодирующего регуляторный белок ToxT. Согласно данным литературы, указанный бе-

² Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности: Методические указания МУ 1.3.2569-09. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2009.

Характеристика и результаты анализа структуры регуляторных генов штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы биовара E1 Tor, использованных в работе
 Characteristics and results of analysis of the structure of regulatory genes of *V. cholerae* O1 strains of the E1 Tor biovar serogroup used in the study

Штамм Strains	Год, место и источник выделения The year, site and source of isolation	Структура гена (замена аминокислот) Gene structure (amino acid substitutions)						
		<i>toxT</i> VC0838	<i>aphA/aphB</i> VC2647/VC1049	<i>hns</i> VC1130	<i>hapR</i> VC0583	<i>viaA</i> VC1652	<i>luxO/luxT</i> VC1021/VCA0917 <i>carR/carS</i> VC1320/ VC1319	
Типичные штаммы <i>V. cholerae</i> O1 E1 Tor с аллелем <i>ctxB3</i> Typical <i>V. cholerae</i> O1 E1 Tor strains with the <i>ctxB3</i> allele								
M1062 (SSAB01)	1970, РФ, Астрахань, больной RF, Astrakhan, patient	int	int/int	int	insT219, C118G (H40D)	int	int/int	int/int
M893 (SSAA01)	1970, РФ, Астрахань, больной RF, Astrakhan, patient	int	int/int	int	insT219	int	int/int	int/int
M818 (LANM01)	1970, РФ, Балаково, больной RF, Balakovo, patient	int	int/int	int	insT219	int	int/int	int/int
M1030 (NEDX01)	1972, Туркменистан, Йолотен, больной Turkmenistan, Ioloten, patient	int	int/int	int	insT219	int	A521G (H174R)/int	int/int
C-191 (WNZT01)	1973, РФ, Ставрополь, больной RF, Stavropol', patient	int	int/int	int	insT219, C109T (R37C)	insTTC p:365	int/int	int/int
123AZ (SMZB01)	1977, Азербайджан, больной Azerbaijan, patient	int	int/int	int	Δ	int	int/int	int/int
2278 (WNZM01)	1987, РФ, Краснодар, больной RF, Krasnodar, patient	int	int/int	int	insT219, G76A (A26T)	int	A340G (K114E)/int	int/int
Геноварианты <i>V. cholerae</i> O1 E1 Tor с аллелем <i>ctxB1</i> Genetic variants of <i>V. cholerae</i> O1 E1 Tor with the <i>ctxB1</i> allele								
P13762 (LQYD01)	1988, Узбекистан, Ташкент, больной Uzbekistan, Tashkent, patient	int	int/int	int	insT219	int	int/int	int/int
M1270 (VXCC01)	1993, РФ, Татарстан, Набережные Челны, больной RF, Tatarstan, Naberezhnye Chelny, patient	int	int/int	int	insT219	int	T98C (I33T)/int	int/int
M1275 (LRAF01)	1993, РФ, Дагестан, Каспийск, больной RF, Dagestan, Kaspiysk, patient	int	int/int	int	int	int	int/int	int/int
M1293 (JFFW01)	1994, РФ, Дагестан, больной RF, Dagestan, patient	int	int/int	int	insT219	int	T176A (L59H)/int	int/int
20-A-11 (PYAR01)	1995, Украина, больной Ukraine, patient	int	int/int	int	insT219	int	int/int	int/int
R17644 (JRTW01)	1997, РФ, Ачинск, больной RF, Achinsk, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	int	T62A (I21N)/int	int/int
M1327 (LRFE01)	1998, РФ, Дагестан, больной RF, Dagestan, patient	int	int/int	int	insT219	int	int/int	int/int

Окончание таблицы | End of the Table

Штамм Strains	Год, место и источник выделения The year, site and source of isolation	Структура гена (замена аминокислот) Gene structure (amino acid substitutions)						
		<i>toxT</i> VC0838	<i>aphA/aphB</i> VC2647/VC1049	<i>hns</i> VC1130	<i>hapR</i> VC0583	<i>viaA</i> VC1652	<i>luxO/luxT</i> VC1021/VCA0917	<i>carR/carS</i> VC1320/ VC1319
M1344 (NEDY01)	2001, РФ, Татарстан, Казань, больной RF, Tatarstan, Kazan, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	int	int/int	int/int
M1429 (LAEM01)	2004, РФ, Башкортостан, Белорецк, больной RF, Bashkortostan, Beloretsk patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	int/int	int/int
RND18826 (AYOM01)	2005, РФ, Тверь, больной RF, Tver, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	G424T (V142L)/int	int/int
P-18899 (LAKM01)	2006, РФ, Мурманск, больной RF, Murmansk, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	C527T (A176V)/int	int/int
89 (NDXR01)	2010, Украина, Ялта, вн. ср. Ukraine, Yalta, env.	int	int/int	int	insT219	int	T287G (I96S)/Δ	int/int
2011EL-301 (AJFN01)	2011, РФ, Таганрог, вн. ср. RF, Taganrog, env.	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	G424T (V142L)/int	int/int
81 (JRCM01)	2014, РФ, Ростов-на-Дону, вн. ср. RF, Rostov-on-Don, env.	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	G424T (V142L)/int	int/int
M3210 (<i>micro26579</i>)	2023, РФ, Ростов-на-Дону, вн. ср. RF, Rostov-on-Don, env.	G436A (V146I)	int/int	int	insT219	int	G331A (A111T)/int	int/int
Геноварианты <i>V. cholerae</i> O1 El Tor с аллелем <i>ctxB7</i> Genetic variants of <i>V. cholerae</i> O1 El Tor with the <i>ctxB7</i> allele								
L3226 (JDVX01)	2010, РФ, Москва, больной RF, Moscow, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	T287G (I96S)/int	int/int
RND19191 (JNGT01)	2010, РФ, Москва, больной RF, Moscow, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	int/int	int/int
76 (MPVL01)	2011, Украина, Мариуполь, больной Ukraine, Mariupol, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	int/int	int/int
153 (MWRE01)	2011, Украина, Мариуполь, больной Ukraine, Mariupol, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	G268T (G90C)/int	int/int
M1509 (NEDZ01)	2012, РФ, Москва, больной RF, Moscow, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	int/int	G256A (D89N)/int
3265/80 (JRQL01)	2014, РФ, Москва, больной RF, Moscow, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insT219	C235T (L79F)	int/int	G256A (D89N)/int
M3208 (<i>micro26578</i>)	2023, РФ, Тамбов, больной RF, Tambov, patient	int	int/int	G319A (G107S)	insCTAAA97 (33fs)	C235T (L79F)	int/int	G256A (D89N)/int

Примечание. В столбце «Штамм» в скобках указан сокращённый код доступа в GenBank, курсивом выделен код доступа в VGARus; вн. ср. — внешняя среда; ins — вставка нуклеотида(ов); int — структура гена идентична референс-штамму *V. cholerae* N16961 O1 биовара El Tor; fs — сдвиг рамки считывания; Δ — делеция гена.

Note. The GenBank accession number is indicated in parentheses in the Strains column, the VGARus accession number is indicated in italics; env. — environmental; ins — nucleotide insertion; int — the structure is identical to the reference strain *V. cholerae* N16961 O1 El Tor; fs — frameshift mutation; Δ — gene deletion.

лок включает 276 аминокислот. Наиболее важным участком является N-терминальный домен (1–164 аминокислоты). Показано, что стабильное сохранение структуры N-терминального участка необходимо для транскрипционной активности данного регулятора [19]. В результате проведённого нами анализа установлено, что структура данного гена у большинства взятых в исследование штаммов соответствует референс-штамму *V. cholerae* N16961 O1 биовара El Tor. Исключение составил штамм M3210 (Ростов-на-Дону, 2023) у которого обнаружена несинонимичная однонуклеотидная замена G436A, которая привела к смене аминокислоты валина на изолейцин в позиции 146 в N-терминальном домене белка ToxT.

Изменений в нуклеотидной последовательности генов *aphA* и *aphB* у взятых в исследование штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor не выявлено.

При изучении структуры гена *luxO* показано, что у большинства типичных штаммов структура данного гена соответствовала референсному штамму. Исключение составили штаммы *V. cholerae* M1030 и 2278, имеющие несинонимичные замены, что привело к смене аминокислот в центральном и аминотерминальном участках белка LuxO. Среди геновариантов 11 штаммов имели несинонимичные SNP (таблица). Сведения о влиянии указанных аминокислотных замен на функциональную активность белка LuxO в литературе отсутствуют. Однако практически все изученные штаммы *V. cholerae* O1 биовара El Tor имели интактную последовательность гена *luxT*. Белок LuxT, как и LuxO, ингибирует транскрипцию *hapR*. Исключение составил штамм *V. cholerae* 89 (Ялта, 2010), у которого ген *luxT* не обнаружен.

Далее нами была изучена структура гена *hapR*, кодирующего белок HapR. Согласно данным литературы, в штамме *V. cholerae* N16961 O1 El Tor, который используется в качестве референсного, в последовательности гена *hapR* имеется делеция тимины в позиции 219, что приводит к сдвигу рамки считывания и синтезу функционально неактивного белка HapR [20]. У большинства изученных нами штаммов присутствует ген *hapR* со вставкой тимины, что указывает на продукцию ими полноценного белка HapR. Исключение составили типичные штаммы *V. cholerae* 123AZ, у которого данный ген отсутствует, а также M1062, C-191 и 2278 с заменами аминокислот в начале N-концевого участка, не влияющими на формирование зрелого белка HapR и его функцию [21]. У геноварианта *V. cholerae* M3208 (Тамбов, 2023) в результате инсерции 5 нуклеотидов в начале гена происходит сдвиг рамки считывания. Данный штамм синтезирует белок HapR с изменённым аминокислотным составом и, вполне вероятно, с изменённой функциональной активностью.

При изучении нуклеотидной последовательности гена *hns*, кодирующего белок-репрессор H-NS, выявлено, что у типичных штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, а также у геновариантов, завезённых в 1988–1995 гг., нуклеотидная последовательность данного гена соответствует последовательности аналогичного гена референс-штамма *V. cholerae* N16961 O1 El Tor. Изменённая структура гена *hns* (замена G на A в позиции 319) выявлена у геноварианта R17644 (Ачинск, 1997), имеющего аллель *ctxB1*. Мутация G319A привела к смене аминокислоты (G107S) в ДНК-связывающем участке белка H-NS (таблица). В последующие годы геноварианты с аллелем *ctxB1* включали как интактный, так мутантный ген *hns*. В то же время мутация G319A в гене *hns* присутствует у всех геновариантов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, имеющих аллель *ctxB7*.

Анализ гена *vieA* из оперона *vieSAB* показал наличие интактной его последовательности у 5 типичных штаммов. Исключение составил штамм *V. cholerae* C191, у которого обнаружена вставка 3 нуклеотидов, кодирующих лизин, в результате чего синтезируется белок VieA с изменённой аминокислотной последовательностью. Геноварианты *V. cholerae* O1 El Tor с *ctxB1*, завезённые с 1988 по 2001 гг., имеют интактный ген *vieA*. В то же время у *V. cholerae* M1429 (Белорецк, 2004) уже присутствует SNP (C235T), приводящая к замене аминокислоты (L79F). В последующие годы белок VieA с данной аминокислотной последовательностью выявлен у большинства изученных геновариантов с аллелем *ctxB1*, а также у всех штаммов с аллелем *ctxB7*. Ранее подобные изменения в структуре белка VieA были выявлены K.J.F. Satchell с соавт. у геновариантов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, выделенных в Зимбабве (2009), Бангладеш (2010), на острове Гаити (2010) [6].

Нуклеотидная последовательность гена *carS* является интактной у всех изученных штаммов, в то же время в гене *carR* выявлены изменения (таблица). В ранее проведённой работе нами обнаружены 2 геноварианта (M1509, 3265/80), в гене *carR* которых присутствует замена G256A, приводящая к смене аминокислот D89N [22]. В результате данной мутации синтезируется нефункциональный белок CarR и изменяется диагностически значимый признак El Tor вибрионов — устойчивость к полимиксину В, штаммы становятся чувствительными к указанному катионному антибиотику [23]. В данной работе выявлен ещё один штамм — *V. cholerae* M3208 (Тамбов, 2023), который также содержит мутацию G256A в гене *carR* (таблица).

Обсуждение

Производство основных факторов патогенности — ХТ и ТКПА в штаммах *V. cholerae* O1 серо-

группы биовара El Tor контролируется значительным количеством регуляторных белков, образующих регуляторную сеть. При этом некоторые из них являются полифункциональными и участвуют в других процессах бактериальной клетки. В данной работе нами был проведён анализ 10 регуляторных генов и выявлены важные изменения, характерные для современных штаммов возбудителя.

При анализе нуклеотидной последовательности гена *toxT* установлена её идентичность данному гену референс-штамма *V. cholerae* N16961 практически у всех изученных как типичных штаммов, так и геновариантов с разными аллелями *ctxB*. Исключение составил геновариант *V. cholerae* M3210 (Ростов-на-Дону, 2023), у которого присутствие несинонимичной SNP в гене *toxT* привело к продукции мутантного белка ToxT с заменой валина на изолейцин в позиции 146. В ранее проведённой работе показано, что при замене валина на аргинин (*V146A*) мутантный штамм сохранял высокий уровень продукции ХТ и ТКПА, сопоставимый с исходным, при выращивании его в разных средах (LB, АК1) при температуре 30°C. В то же время культивирование мутантного штамма при температуре 37°C приводило к значительному снижению биосинтеза ХТ (9% от исходного) и полному отсутствию продукции ТКПА [19]. Можно высказать предположение, что у штамма *V. cholerae* M3210 биосинтез ХТ и ТКПА также будет зависеть от температуры культивирования. Однако для проверки данного предположения необходимы дополнительные исследования.

Стабильное сохранение структуры генов *aphA* и *aphB* у штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, завезённых и выделенных на территории России и сопредельных стран в разные периоды текущей пандемии холеры, может указывать на их важную роль в биологии возбудителя холеры. Так, белок AphA участвует не только в контроле продукции ХТ и ТКПА, но и в биосинтезе ацетоина, который противодействует закислению среды при росте холерного вибриона в присутствии глюкозы, а также контролирует процесс формирования биоплёнки [24, 25]. Достаточно стабильной является и структура гена *hapR* — выявлен только 1 штамм (*V. cholerae* M3208), завезённый из Индии в 2023 г., который содержит вставку 5 нуклеотидов в данном гене, что приводит к сдвигу рамки считывания и, возможно, биосинтезу нефункционального белка HapR. В ранее проведённой работе показано, что наличие функционального белка HapR не является существенным для проявления патогенных свойств *V. cholerae*. Штаммы с делетированным геном *hapR* были вирулентными [26].

При изучении другого негативного регулятора — белка H-NS установлено, что 46,7% изученных геновариантов с аллелем *ctxB1*, а также все

штаммы с аллелем *ctxB7* имеют несинонимичную SNP (*G319A*) в гене *hns*, что привело к замене аминокислот в позиции 107 (*G107S*). В.М. Carignan и соавт. показали, что в штаммах с данной мутацией белок H-NS теряет способность связываться с ДНК и репрессировать транскрипцию гена *toxT*, что приводит к увеличению продукции белка ToxT, и вследствие этого возрастает биосинтез ХТ и ТКПА и повышаются вирулентные свойства штаммов [8]. Стоит отметить, что мутация в гене *hns* возникла уже вскоре после появления первых геновариантов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, т. к. уже в 1997 г. на территорию России были завезены штаммы с мутацией *G319A*. Для геновариантов с аллелем *ctxB7* указанная структура гена *hns* является уже характерным признаком (генетической меткой).

При анализе структуры гена *vieA* установлено, что штаммы с мутированным *vieA* (*C235T*) впервые были завезены в Россию в 2004 г. (таблица). Белок VieA играет важную роль в биологии штаммов классического биовара, т. к. регулирует транскрипцию 401 гена (10,3% генома). В то же время у El Tor вибрионов под контролем VieA находятся всего несколько генов, в том числе *yps* и *rbm*, кодирующие, соответственно, продукцию экзополисахарида и белковый матрикс биоплёнки [27]. Однако изменения в структуре гена *vieA* важны для El Tor вибрионов в совокупности с вариабельностью гена *hns*. Мутация *G319A* в гене *hns* приводит к повышению экспрессии штаммами ХТ, ТКПА, а также гемолизина HlyA и MARTX токсина, но при нахождении в кишечнике данные гипервирулентные штаммы становятся чувствительными к действию антимикробных пептидов и желчи хозяина. В то же время при изменении структуры гена *vieA* и продукции мутантного белка VieA данные штаммы *in vivo* приобретают устойчивость к действию указанных стрессоров [28]. В экспериментально полученных штаммах, содержащих нуклеотидную последовательность *hapR* с инсерцией тимины в позиции 219, наряду с наличием изменённой структуры *hns* (*G319A*) и/или *vieA* (*C235T*), биосинтез ХТ значительно возрастал [8]. Среди изученных нами ряд геновариантов с аллелем *ctxB1*, а также все штаммы с аллелем *ctxB7* включают указанные гены (*hns* и *vieA*) с мутациями, что указывает на участие данных изменённых регуляторов в повышении продукции ХТ в данных штаммах.

Появление мутации *G265A* в гене *carR* у геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенных в последние годы, согласно данным литературы, приводит к снижению транскрипционной активности белка CarR, что выражается в уменьшении экспрессии *almEFG* оперона и снижению процесса модификации липополисахарида клеточной стенки. В результате данного процесса клетки становятся чувствительными к действию катионного антими-

кробного препарата — антибиотик полимиксину В, что фенотипически *in vitro* проявляется изменением диагностически значимого признака и отсутствию роста штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor в его присутствии [23]. Однако, возможно, при нахождении *in vivo*, в условиях воздействия катионных антимикробных пептидов хозяина, геноварианты, синтезирующие мутантный белок CarR, будут устойчивыми к их действию, т. к. они продуцируют мутантный белок VieA, который восстанавливает устойчивость патогена к действию данных стрессоров [28].

При анализе структуры гена *luxO* установлена его вариабельность как у типичных штаммов, так и у геновариантов. В изученной нами литературе отсутствуют сведения о влиянии выявленных мутаций на функциональную активность LuxO. Можно предположить, что наличие функционального LuxT практически у всех штаммов, как и LuxO, выполняющего ингибирующую функцию в отношении *hapR*, может компенсировать снижение или отсутствие активности LuxO. В ранее проведённой работе установлено, что у «гипервирулентного» геноварианта *V. cholerae* MQ1795 O1 биовара El Tor (Бангладеш, 1994), наряду с мутациями в *hapR* (вставка T в позиции 219), *hns* (G319A), *vieA* (C235T), изменена и структура гена *luxO* (C656T) [8]. Однако у изученных нами штаммов данная мутация не выявлена.

Заключение

Проведённое исследование показало, что нуклеотидная последовательность ряда изученных регуляторных генов (*toxT*, *aphA*, *aphB*, *carS*, *luxT*, *hapR*) у штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, завезённых и выделенных на территории России и сопредельных стран, остаётся неизменной. В то же время структура других генов изменяется. Наиболее значимыми являются мутации в гене *carR*, что привело к изменению диагностически значимого признака и появлению чувствительных к антибиотик полимиксину В геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, а также в генах *hns* и *vieA*, кодирующих негативные регуляторы продукции факторов патогенности. Можно высказать предположение, что постепенное повышение вирулентности геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor явилось результатом изменения регуляторных механизмов продукции основных факторов патогенности — ХТ и ТКПА вследствие появления мутаций как в структурных генах *ctxB* и *tcpA*, так и в регуляторных *hns* и *vieA*, кодирующих белки-репрессоры. При этом мутации, выявленные в генах *hns* (G319A), *vieA* (C235T) и *carR* (G256A) у всех изученных штаммов с аллелем *ctxB7*, могут быть использованы в качестве генетических меток современных геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А. и др. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023;(1):56–66. Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., et al. Cholera: analysis and assessment of epidemiological situation around the world and in Russia (2013–2022). Forecast for 2023. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2023;(1):56–66. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-1-56-66> EDN: <https://elibrary.ru/hzasbo>
2. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011;477(7365):462–5. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10392>
3. Weill F., Domman D., Njamkepo E., et al. Genomic history of the seventh pandemic of cholera in Africa. *Science*. 2017; 358(6364):785–9. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aad5901>
4. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., et al. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002;40(9):3296–9. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.40.9.3296-3299.2002>
5. Son M.S., Megli C.J., Kovacicova G., et al. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *J. Clin. Microbiol.* 2011;49(11):3739–49. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01286-11>
6. Satchell K.J., Jones C.J., Wong J., et al. Phenotypic analysis reveals that the 2010 Haiti cholera epidemic is linked to a hypervirulent strain. *Infect. Immun.* 2016;84(9):2473–81. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00189-16>
7. Naha A., Mandal R.S., Samanta P., et al. Deciphering the possible role of *ctxB7* allele on higher production of cholera toxin by Haitian variant *Vibrio cholerae* O1. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020;14(4):e0008128. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008128>
8. Carignan B.M., Brumfield K.D., Son M.S. Single nucleotide polymorphisms in regulator-encoding genes have an additive effect on virulence gene expression in a *Vibrio cholerae* clinical isolate. *mSphere*. 2016;1(5):e00253-16. DOI: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00253-16>
9. Matson J.S., Withey J.H., DiRita V.J. Regulatory networks controlling *Vibrio cholerae* virulence gene expression. *Infect. Immun.* 2007;75(12):5542–9. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.01094-07>
10. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio Cholerae*. *Genomics and Molecular Biology*. Norfolk;2008.
11. Li Y., Yan J., Li J., et al. A novel quorum sensing regulator LuxT contributes to the virulence of *Vibrio cholerae*. *Virulence*. 2023;14(1):2274640. DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2023.2274640>
12. Wang H., Ayala J.C., Benitez J.A., Silva A.J. RNA-seq analysis identifies new genes regulated by the histone-like nucleoid structuring protein (H-NS) affecting *Vibrio cholerae* virulence, stress response and chemotaxis. *PLoS One*. 2015;10(2):e0118295. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118295>
13. Tischler A.D., Camilli A. Cyclic diguanylate regulates *Vibrio cholerae* virulence gene expression. *Infect. Immun.* 2005;73(9):5873–82. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.73.9.5873-5882.2005>
14. Murugesan J., Mubarak S.J., Vedagiri H. Design of novel anti-quorum sensing peptides targeting LuxO to combat *Vibrio cholerae* pathogenesis. *In Silico Pharmacol.* 2023;11(1):30. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40203-023-00172-22023>
15. Миронова Л.В., Балахонов С.В., Урбанович Л.Я. и др. Молекулярно-генетический анализ эпидемически опасных

- штаммов *Vibrio cholerae* El Tor, изолированных в Сибирском и Дальневосточном регионах России. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2012;(2):13–20. EDN: <https://elibrary.ru/pfhmmn>
- Mironova L.V., Balakhonov S.V., Urbanovich L.Y., et al. Molecular-genetic analysis of *Vibrio cholerae* El Tor strains of epidemic risk isolated in Siberian and Far East regions of Russia. *Molecular Genetics, Microbiology, Virology*. 2012;27(2):61–8. DOI: <https://doi.org/10.3103/S0891416812020073> EDN: <https://elibrary.ru/rgeqkb>
16. Смирнова Н.И., Заднова С.П., Агафонов Д.А. и др. Сравнительный молекулярно-генетический анализ мобильных элементов природных штаммов возбудителя холеры. *Генетика*. 2013;49(9):1036–47. DOI: <https://doi.org/10.7868/S0016675813090087> EDN: <https://elibrary.ru/qzdfjv>
- Smirnova N.I., Zadnova S.P., Agafonov D.A., et al. Comparative molecular-genetic analysis of mobile elements in natural strains of cholera agent. *Russian Journal of Genetics*. 2013;49(9):898–908. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1022795413090081> EDN: <https://elibrary.ru/rfqppp>
17. Монахова Е.В., Ghosh A., Mutreja A. и др. Эндемичная холера в Индии и завозная холера в России: что общего? *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020;(3):17–26. Monakhova E.V., Ghosh A., Mutreja A., et al. Endemic cholera in India and imported cholera in Russia: what is common? *Particularly Dangerous Infections*. 2020;(3):17–26. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-3-17-26> EDN: <https://elibrary.ru/sapflg>
18. Савельев В.Н., Ковалев Д.А., Савельева И.В. и др. Эволюция фенотипических свойств и молекулярно-генетической организации геномов штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных от больных и из объектов окружающей среды на Кавказе с 1970 по 1998 год. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНССО*. 2020;(12):56–61. Savelyev V.N., Kovalev D.A., Savelyeva I.V., et al. The evolution of phenotypic properties and molecular genetic organization of genomes of *Vibrio cholerae* O1 El Tor variant strains isolated from patients and environmental objects in the Caucasus in 1970–1998. *Public Health and Life Environment*. 2020;(12):56–61. DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-333-12-56-61> EDN: <https://elibrary.ru/cfdbug>
19. Childers B.M., Weber G.G., Prouty M.G., et al. Identification of residues critical for the function of the *Vibrio cholerae* virulence regulator ToxT by scanning alanine mutagenesis. *J. Mol. Biol.* 2007;367(5):1413–30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.01.061>
20. Kovacikova G., Skorupski K. Regulation of virulence gene expression in *Vibrio cholerae* by quorum sensing: HapR functions at the AphA promoter. *Mol. Microbiol.* 2002;46(4):1135–47. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03229.x>
21. De Silva R., Kovacikova G., Lin W., et al. Crystal structure of the *Vibrio cholerae* quorum-sensing regulatory protein HapR. *Infect. Immun.* 2007;189(15):5683–91. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.01807-06>
22. Заднова С.П., Краснов Я.М., Плеханов Н.А. и др. Выявление чувствительных к полимиксину В штаммов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы Эль Тор биовара и их филогенетический анализ. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(5):538–47. Zadnova S.P., Krasnov Ya.M., Plekhanov N.A., et al. Identification of *Vibrio cholerae* O1 strains of the El Tor biovar sensitive to polymyxin B and their molecular genetic analysis. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(5):538–47. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-138> EDN: <https://elibrary.ru/evrqpq>
23. Samanta P., Mandal R.S., Saha R.N., et al. A point mutation in carR is involved in the emergence of polymyxin B-sensitive *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype by influencing gene transcription. *Infect. Immun.* 2020;88(5):e00080–20. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00080-20>
24. Kovacikova G., Lin W., Skorupski K. Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2005;57(2):420–33. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04700.x>
25. Yang M., Frey E.M., Liu Z., et al. The virulence transcriptional activator AphA enhances biofilm formation by *Vibrio cholerae* by activating the expression of the biofilm regulator VpsT. *Infect. Immun.* 2010;78(2):697–703. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00429-09>
26. Joelsson A., Liu Z., Zhu J. Genetic and phenotypic diversity of quorum-sensing systems in clinical and environmental isolates of *Vibrio cholerae*. *Infect. Immun.* 2006;74(2):1141–7. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.74.2.1141-1147.2006>
27. Beyhan S., Tischler A.D., Camilli A., Yildiz F.H. Differences in gene expression between the classical and El Tor Biotypes of *Vibrio cholerae* O1. *Infect. Immun.* 2006;74(6):3633–42. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.01750-05>
28. Russell R., Wang H., Benitez J.A., Silva A.J. Deletion of gene encoding the nucleoid-associated protein H-NS unmasks hidden regulatory connections in El Tor biotype *Vibrio cholerae*. *Microbiology (Reading)*. 2018;164(7):998–1003. DOI: <https://doi.org/10.1099/mic.0.000672>

Информация об авторах

Плеханов Никита Александрович[✉] — к. б. н., с. н. с. лаб. патогенных вибрионов отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, muscari.sp@icloud.com, <https://orcid.org/0000-0002-2355-7018>

Федоров Андрей Витальевич — м. н. с. лаб. геномного и протеомного анализа отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>

Челдышова Надежда Борисовна — к. м. н., с. н. с. лаб. патогенных вибрионов отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5759-3765>

Кураташвили Алина Юрьевна — м. н. с. лаб. патогенных вибрионов отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9779-166X>

Information about the authors

Nikita A. Plekhanov[✉] — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of pathogenic vibrios, Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russia, muscari.sp@icloud.com, <https://orcid.org/0000-0002-2355-7018>

Andrey V. Fedorov — junior researcher, Laboratory of genomic and proteomic analysis, Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>

Nadezhda B. Cheldyshova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of pathogenic vibrios, Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5759-3765>

Alina Yu. Kuratashvili — junior researcher, Laboratory of pathogenic vibrios, Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9779-166X>

Заднова Светлана Петровна — д. б. н., в. н. с., зав. лаб. патогенных вибрионов отдела микробиологии Российского противочумного института «Микроб», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>

Участие авторов: *Плеханов Н.А.* — существенный вклад в проведение исследования, анализ полученных данных, редактирование текста статьи; *Федоров А.В.* — проведение исследования, интерпретация полученных данных; *Челдышова Н.Б.* — проведение исследования, анализ полученных данных; *Кураташвили А.Ю.* — проведение исследования; *Заднова С.П.* — формирование идеи, разработка концепции и дизайна исследования, утверждение окончательного варианта статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 12.04.2024;
принята к публикации 13.06.2024;
опубликована 29.08.2024

Svetlana P. Zadnova — D. Sci. (Biol.), leading researcher, Head, Laboratory of pathogenic vibrios, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>

Author contribution: *Plekhanov N.A.* — significant contribution to the research, analysis of the data obtained, editing the text of the article; *Fedorov A.V.* — conducting research, interpreting the data obtained; *Cheldyshova N.B.* — conducting research, analyzing the data obtained; *Kuratashvili A.Yu.* — conducting research; *Zadnova S.P.* — idea formation, development of the concept and design of the study, approval of the final version of the article. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a final approval of the version to be published.

The article was submitted 12.04.2024;
accepted for publication 13.06.2024;
published 29.08.2024

ОБЗОРЫ

Систематический обзор
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-467>



Ограничения в создании искусственных популяций в агентном моделировании эпидемий: систематический обзор

Маслова И.И., Манолов А.И.✉, Глуценко О.Е., Козлов И.Е., Цуркис В.И., Попов Н.С., Самойлов А.Е., Лукашев А.Н., Ильина Е.Н.

Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Ключевым этапом агентного моделирования эпидемий, позволяющим исследователям учитывать индивидуальные особенности людей, является создание искусственной популяции. Основная сложность этой процедуры — поиск баланса между подробностью описания популяции и вычислительной эффективностью расчётов.

Цели и задачи обзора: критически проанализировать и обобщить актуальные данные о способах создания искусственных популяций; оценить ограничения и преимущества имеющихся подходов при решении различных задач в эпидемиологии.

Материалы и методы. Проведён анализ источников литературы, посвящённых агентному моделированию. Анализ сфокусирован на алгоритмах создания искусственной популяции с заданным уровнем детализации для моделирования респираторных инфекций человека.

Результаты. Обобщены подходы к созданию искусственных популяций. Выявлены основные принципы реализации взаимодействия между агентами: с помощью сетей контактов между агентами и на основе учёта перемещения агентов между локациями. Первый подход является наиболее эффективным для вычислений и простым; второй подход позволяет лучше учитывать изменение поведения агентов в ходе развития эпидемического процесса.

Заключение. Агентное моделирование — оптимальный инструмент при выборе наилучшего сценария проведения противоэпидемических мероприятий и исследовании роли индивидуальных особенностей людей в развитии эпидемий. При создании искусственной популяции важно включать в модель факторы, на которые может быть направлен контроль. Существенным ограничением является отсутствие фактологических данных о структуре популяции, однако его можно преодолеть за счёт привлечения косвенных данных.

Ключевые слова: агентное моделирование, искусственная популяция, эпидемический процесс, вычислительная эпидемиология, систематический обзор

Источник финансирования. Работа поддержана грантом РФФ №21-15-00431 и субсидией Роспотребнадзора №141-02-2023-208.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Маслова И.И., Манолов А.И., Глуценко О.Е., Козлов И.Е., Цуркис В.И., Попов Н.С., Самойлов А.Е., Лукашев А.Н., Ильина Е.Н. Ограничения в создании искусственных популяций в агентном моделировании эпидемий: систематический обзор. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2024;101(4):530–545.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-467>

EDN: <https://www.elibrary.ru/goxztz>

Limitations in creating artificial populations in agent-based epidemic modeling: a systematic review

Irina I. Maslova, Aleksandr I. Manolov[✉], Oksana E. Glushchenko, Ivan E. Kozlov, Vera I. Tsurkis, Nikolay S. Popov, Andrey E. Samoilov, Alexandr N. Lukashev, Elena N. Ilina

Research Institute of Systems Biology and Medicine, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. The key step in agent-based modeling of epidemics, which allows researchers to take into account individual characteristics of people, is the creation of an artificial population. The main difficulty of this procedure is finding a balance between the detail of the population description and the computational efficiency of the calculations.

The aim and objectives of the review: Critically analyze and summarize the current evidence on how to create artificial populations; evaluate the limitations and advantages of available approaches in solving various problems in epidemiology.

Materials and methods. An analysis of literature sources devoted to agent-based modeling has been performed. The analysis is focused on algorithms for creating an artificial population with a given level of detail for modeling human respiratory infections.

Results. The approaches to the creation of artificial populations are generalized. The main principles of realization of interaction between agents are revealed: by means of networks of contacts between agents and on the basis of taking into account the movement of agents between locations. The first approach is the most computationally efficient and simple; the second approach allows to better take into account the change in the behavior of agents during the development of the epidemic process.

Conclusion. Agent-based modeling is an optimal tool for selecting the best scenario for epidemic control and investigating the role of individual characteristics of people in the development of epidemics. When creating an artificial population, it is important to include in the model factors that can be targeted for control. A significant limitation is the lack of factual data on population structure, but this can be overcome by using indirect data.

Keywords: *Agent-based modeling, artificial population, epidemic process, computational epidemiology, systematic review*

Funding source. The work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 21-15-00431 and Rospotrebnadzor subsidy No. 141-02-2023-208.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Maslova I.I., Manolov A.I., Glushchenko O.E., Kozlov I.E., Tsurkis V.I., Popov N.S., Samoilov A.E., Lukashev A.N., Ilina E.N. Limitations in creating artificial populations in agent-based epidemic modeling: a systematic review. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(4):530–545.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-467>

EDN: <https://www.elibrary.ru/goxztx>

Введение

С начала 2000-х гг. человечество столкнулось с рядом вирусных эпидемий, включая тяжёлый острый респираторный синдром (ТОРС, 2002–2003 гг.), грипп А(H1N1)-California (свиной грипп) (2009 г.), Ближневосточный респираторный синдром (MERS, 2012 г.), вспышки лихорадки Эбола (с 2014 по 2016 г.), лихорадки Зика (2015–2016 гг.) и, наконец, пандемию COVID-19, вызванную новым коронавирусом SARS-CoV-2 (с 2019 г. по настоящее время). Пандемия COVID-19 вызвала интерес специалистов в области эпидемиологии и здравоохранения к использованию вычислительных средств для прогнозирования развития эпидемий и подбора оптимальных противоэпидемических мер. К этим средствам

относятся методы машинного обучения и компьютерные эпидемиологические модели.

Компьютерное моделирование в эпидемиологии предназначено для воспроизведения динамики распространения инфекционного заболевания с учётом демографических характеристик населения [1–3], структуры сети контактов [4] и информации о стратегиях вмешательства [5, 6]. Эти модели представляют собой виртуальную лабораторию, позволяющую изучать гипотетические сценарии, оценивать эффективность различных мер и предвидеть траектории развития вспышек.

Численное решение обыкновенных дифференциальных уравнений и агентно-ориентированное моделирование (АОМ) — два наиболее распростра-

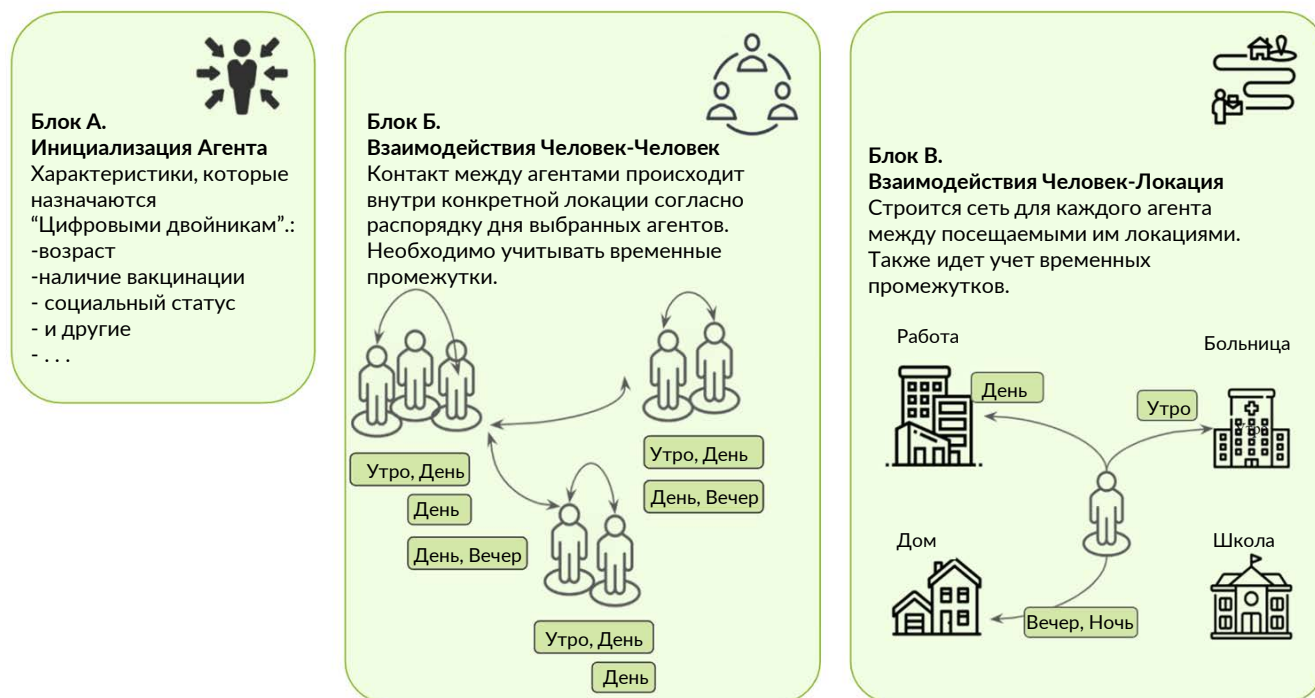


Рис. 1. Искусственная популяция включает агентов с различными демографическими характеристиками (Блок А). Этим агентам назначаются некоторые обязанности, которые они должны выполнять в определённых местах и в определённое время. Так образуется сеть, которая соединяет агентов с локациями в течение дня, создавая сеть человек–локация (Блок В). Сеть контактов человек–человек (Блок Б) разрабатывается на основе взаимодействий, полученных на основе графа человек–локация.

Fig. 1. The artificial population consists of agents with different demographic characteristics (block A). These agents are assigned specific tasks to perform at specific locations and times. This determines a network that connects agents to locations throughout the day, creating a person-location network (Block B). The person-to-person contact network (Block B) is developed based on the interactions obtained from the person-to-location graph.

нённых подхода к моделированию в эпидемиологии [7, 8]. К первому подходу относятся различные компартментные модели, например, модель «восприимчивый–инфицированный–выздоровевший» [9] и её модификации; ко второму — агентные модели, которые учитывают неоднородность популяции за счёт моделирования действий и взаимодействий отдельных агентов (людей) внутри неё [3, 4, 10].

Агентные модели рассматривают каждого человека как автономного агента, обладающего характеристиками, определяющими его поведение и социальные взаимодействия. Смысловые блоки, на которые можно разделить любую синтетическую популяцию, представлены на **рис. 1**.

Агентно-ориентированный подход применим для изучения противоэпидемических мер [11–13], оценки эффективности воздействий на различные группы населения [14] и проведения анализа чувствительности результатов моделирования к изменениям в значениях параметров [15]. Основные цели применения АОМ в интересах общественного здравоохранения заключаются в анализе и прогнозировании последствий предполагаемых вмешательств для здоровья населения с учётом аспектов сложной социальной структуры. Модели, постро-

енные на основе АОМ, помогают понять основные механизмы, определяющие динамику и результаты протекания эпидемий. АОМ могут быть использованы для виртуальных экспериментов, исследующих различные стратегии вмешательств, и других мероприятий по снижению заболеваемости среди населения [16]. Всё это делает их важным инструментом исследований и обучения специалистов в области общественного здравоохранения.

Основная сложность использования АОМ как инструмента социальных, политических и экономических исследований заключается в грамотном сопоставлении цели моделирования и степени детализации модели [17]. Недостатком АОМ может стать избыточная подробность, которая усложняет общую задачу моделирования и приводит к созданию чрезмерно сложных моделей с избыточными параметрами, которые не вносят существенного вклада в результаты моделирования [18].

Поиск баланса в выборе учитываемых параметров и сложности при создании искусственной популяции (ИП) для АОМ — открытый вопрос, стоящий перед исследователями. Настоящий систематический обзор имеет **целью** выявить наиболее распространённые подходы к созданию ИП при

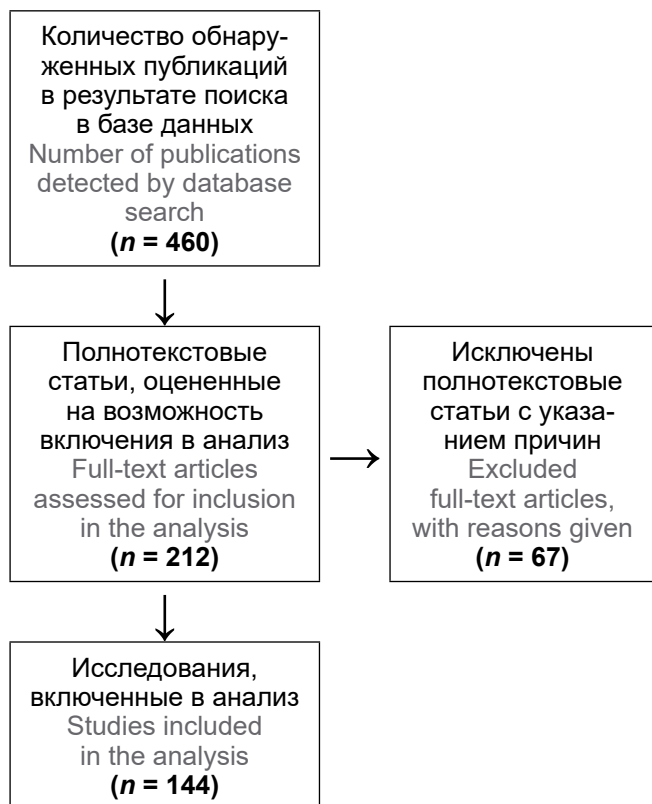


Рис. 2. Схема отбора публикаций для систематического обзора.

Fig. 2. Publication selection scheme for the systematic review.

агентном моделировании и конкретизировать их ограничения.

Материалы и методы

Данный систематический обзор основан на рекомендациях PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses). Систематический поиск литературы проводили с использованием баз данных PubMed. Поиск осуществляли с использованием ключевых слов: «agent-based» AND «epidemiology». Рассмотрены полнотекстовые статьи, опубликованные в 2020–2024 гг. В ходе первой оценки были отобраны исследования, использующие агентное моделирование, изучающие респираторные вирусные инфекции и имеющие достаточно подробное описание модели (**рис. 2**).

Из исследования были исключены работы, изучающие поведение вируса в отдельном организме, а также исследования, посвящённые моделированию инфекций животных.

Согласно методике поиска было отобрано 144 исследования, опубликованных в международных журналах на английском языке, которые использовались для дальнейшего анализа. Русскоязычных публикаций, удовлетворяющих критериям отбора, не обнаружено. Отобранные публикации были систематизированы согласно способам задания ИП

по критериям «локация» (учёт пространства) и «свойства агента». К свойствам агента были отнесены такие характеристики, как пол, возраст, сфера деятельности, этническая принадлежность, доход и подобные — т.е. характеристики, определяемые на основе демографических и статистических данных. Мы считали, что модель учитывает локацию, если вероятность передачи инфекции зависела от пространственного положения агента. Такое свойство модели может быть реализовано как за счёт отслеживания координат каждого агента в моделируемом пространстве, так и с помощью моделирования отдельных пространственных сущностей (например, «магазин», «школа»), в которых могут размещаться агенты.

Результаты

В 2020–2024 гг. наибольший интерес исследователей был направлен на моделирование распространения в популяции вируса SARS-CoV-2 — возбудителя COVID-19: 129 (89%) работ из 144 отобранных моделировали распространение данного вируса, 10 (11%) работ — распространение вируса гриппа. В ряде работ исследователи представляли свои модели как подходящие для изучения нескольких респираторных заболеваний (**табл. 1**).

Для систематизации типов ИП, используемых в моделях, проанализировали наличие свойств агентов и учёт их локаций. На **рис. 3** приведено распределение рассмотренных в обзоре публикаций согласно типу описываемых в них ИП.

Можно выделить 4 варианта построения ИП, исходя из комбинаций наличия и отсутствия учёта свойств агентов и учёта локаций.

Подходы к созданию ИП без учёта локаций и свойств агента (12 статей)

ИП без учёта пространственной локализации и демографических свойств агентов представляет собой граф — сеть контактирующих агентов (**рис. 4**). Стохастичность таких моделей создаётся за счёт ге-

Таблица 1. Распределение статей по моделируемому возбудителю

Table 1. Distribution of the articles according to the pathogen

Патоген Pathogen	Количество публикаций Publication amount	
	<i>n</i>	%
SARS-CoV-2	129	89
Вирус гриппа Influenza	10	6,9
Вирус кори Measles	1	0,7
MERS-CoV	1	0,7
Неуточнённые респираторные заболевания Unspecified respiratory diseases	4	2,7

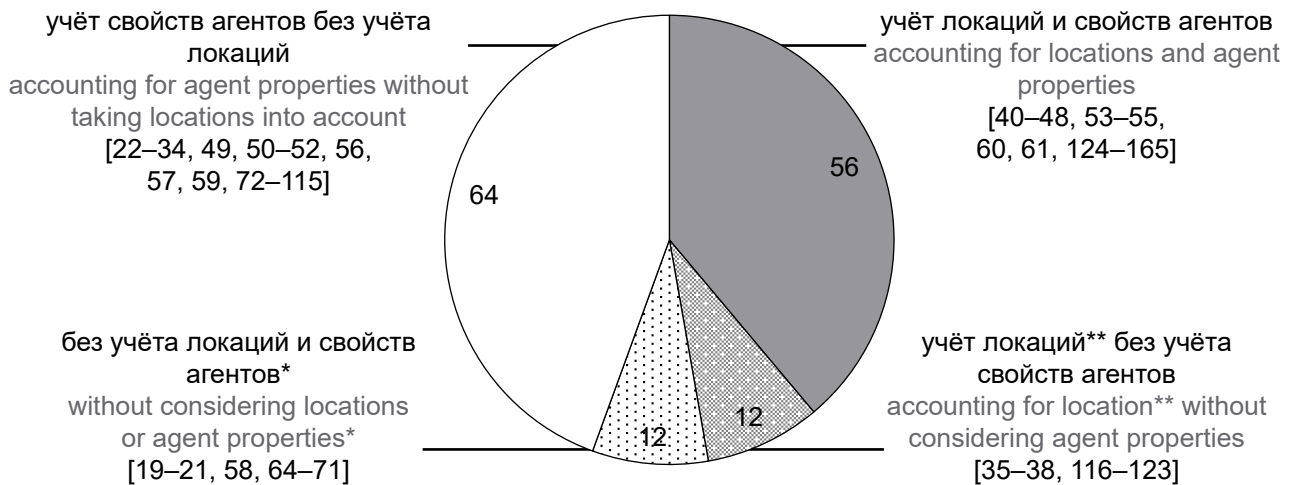


Рис. 3. Распределение публикаций по типам ИП.

*При этом агенты могут быть наделены индивидуальным уровнем защиты от патогена (иммунитета) и уровнем вирусной нагрузки.
**В эту группу также включены работы, которые учитывают пространственное расположение зданий и/или агентов.

Fig. 3. Distribution of publications by artificial population type.

*At the same time, agents can be endowed with an individual level of protection against the pathogen (immunity) and the level of viral load.
**This group also includes papers that consider the spatial location of buildings and/or agents.

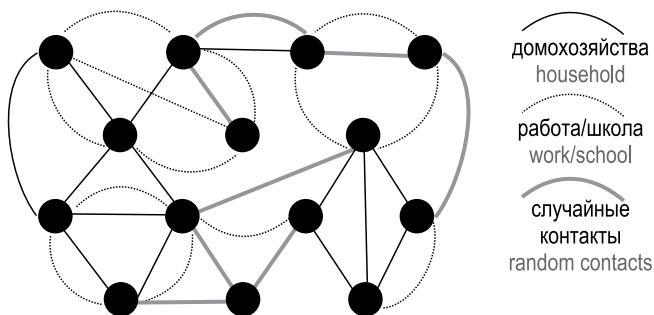


Рис. 4. Сеть контактов без учёта свойств агентов и пространственных характеристик.

Каждый узел — агент, ребра между узлами — контакт на одном из слоёв.

Fig. 4. A network of contacts without considering the properties of agents and spatial characteristics is illustrated.

Each node represents an agent, and the edges between nodes indicate a contact on one of the layers.

нерации индивидуальных наборов связей у каждого узла (агента) на основе заданных вероятностных распределений числа контактов.

При этом контакты или социальные связи могут быть одинаковыми или различаться по силе и периодичности взаимодействия. В 6 (50%) из 12 рассмотренных работ все контакты являются одинаковыми. Ещё в 5 (41,7%) работах контакты разделены на 3 категории: близкие, постоянные (семья, друзья) и случайные, не близкие (контакты на улице, работа, школа). В 1 (8,3%) статье разделение взаимодействий по типам происходит более сложным образом.

Например, в статье J. Whitman и соавт. взаимодействия разделены на два уровня: внутрикогортные (сильные связи, высокая вероятность переда-

чи вируса) и межкогортные (слабые связи, редкие случаи передачи вируса, количество связей меньше) [19]. Это позволило учесть наличие кластеров в распределении контактов и воспроизвести повторяющееся поведение пиков при распространении заболевания со значительной стохастичностью. С помощью этой модели исследователи изучили поведение репродуктивного числа при различных значениях начального иммунного профиля популяции, а также динамику временного ряда заражения при изменении численности и контактной матрицы популяции.

В статье X. Guo и соавт. представлена многоуровневая модель связи между передачей заболевания и эмоциональным напряжением в обществе [20]. В данной работе происходит наложение двух независимых сетей контактов. Каждый узел представляет некоторую группу людей, заражение и обмен информацией происходит через рёбра данных узлов. В каждом узле, в свою очередь, моделируется набор индивидов, что повышает точность результатов.

В работе N.N. Chung и соавт. представлена сеть контактов, состоящая из множества перекрывающихся сетей (домохозяйства, общежития, рабочие места, динамическая сеть толпы, динамическая сеть общественных собраний) [21].

Агентное моделирование на основе построения ИП без учёта пространственной локализации и демографических свойств агентов даёт возможность решать достаточно широкий спектр задач без дополнительного усложнения модели. Данный подход был использован для исследования влияния на результат моделирования таких факторов, как

размер популяции, параметры иммунитета, количество и характер связей агентов, плотность населения. Этот подход также позволяет проводить анализ стратегий карантина и тестирования, исследовать характер повторных пиков заболеваемости, динамику распространения мутирующих инфекций, роль суперраспространителей (агентов с большим количеством связей).

Отсутствие детализации свойств агентов при создании ИП позволяет облегчить вычислительную модель и повысить её интерпретируемость. При этом основным ограничением ИП, рассмотренных в данном разделе, является отсутствие возможности введения настраиваемой кластеризации (например, выделение пенсионеров в отдельную группу) и учёта поведения населения, а также неприспособленность таких моделей к изучению влияния общественных взаимодействий.

Подходы к созданию ИП, учитывающей свойства агентов без учёта локаций (64 статьи)

ИП, в которых агенты, имеющие демографические, биологические, социальные свойства, взаимодействуют друг с другом в неструктурированном пространстве, наиболее распространены в агентном моделировании. Именно такой тип ИП многие авторы считают оптимальным с точки зрения баланса точность/производительность. Данный подход популярен также благодаря тому, что высокая вычислительная эффективность позволяет наделять агентов обширным набором параметров.

Построение сети контактов в рассматриваемом типе ИП зачастую основывается на создании 4 основных слоев: домохозяйства, работа, школы и

детские сады, общество. В более сложных моделях возможно наложение до 30 слоев.

Рассмотренные нами агентные модели, основанные на формировании ИП, учитывающей свойства агентов без учёта локаций, согласно характеру реализации социальных связей распределялись следующим образом:

- однотипные контакты — 11 (17,2%) статей;
- разделение на близкие/дальние контакты — 1 (1,5%);
- разделение на 3 и более типов контактов — 52 (81,3%).

К наиболее распространённым свойствам агентов относятся возраст (64/64) и пол (9/64). Возрастные группы могут различаться вероятностью заражения и развития более тяжёлых случаев заболевания. Возрастная структура популяции также влияет на свойства сетей контактов между агентами. Так, в моделях с однотипными контактами сеть взаимодействий строится на основе возрастных матриц контактов [22, 23]. Для старшего поколения могут быть исключены рабочие контакты, а в некоторых моделях строятся дополнительные блоки сетей контактов для учреждений по уходу за пожилыми людьми [24–30].

Количество и характер контактов между агентами могут зависеть от рода деятельности/профессии агента. В простейшем случае моделируются такие профессии, как учитель и сотрудник больницы. Подобный подход допускает моделирование элементов временной динамики взаимодействия агентов, например, пятидневного рабочего дня, возможности отпуска и пропуска школы/работы, разделения сетей контактов на дневные (школа, работа) и вечерние/ночные (дом, сообщество).

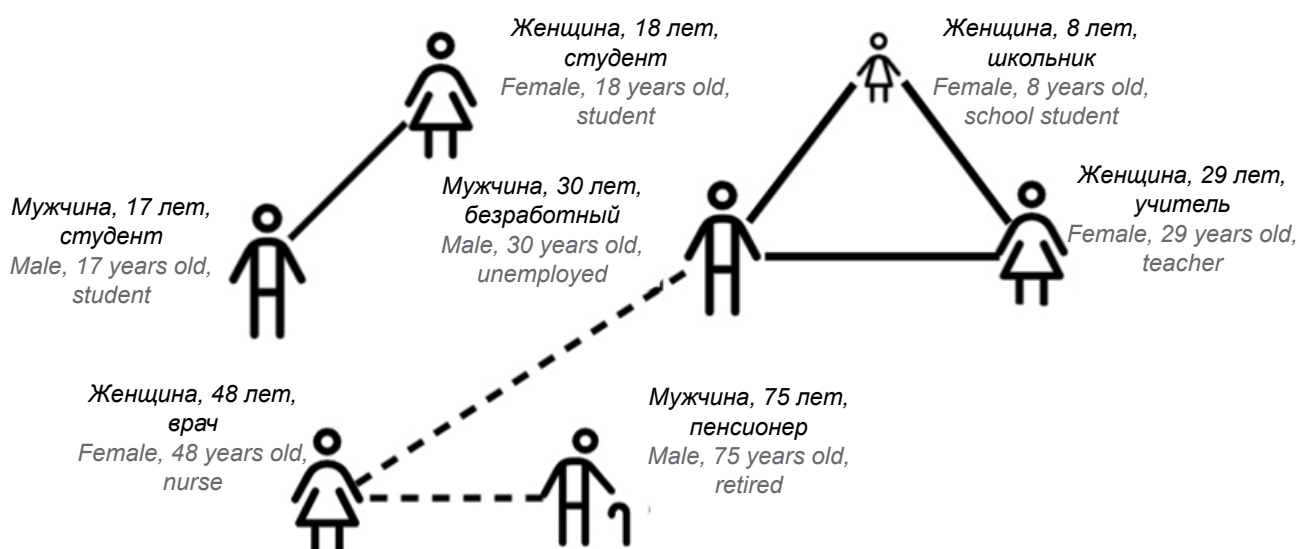


Рис. 5. Межагентные взаимодействия при условии наличия у агентов заданных свойств. Моделируются постоянные (сплошные линии) и динамические (пунктирные линии) сети контактов.

Fig. 5. Inter-agent interactions under the assumption that agents do have properties. Constant (solid lines) and dynamic (dashed lines) contact networks are modelled.

Около 20% публикаций, рассматриваемых в этом разделе, используют для построения ИП и моделирования среду Covasim [10]. В базовой версии Covasim — это среда моделирования с открытым исходным кодом, адаптированная для изучения динамики пандемии COVID-19. ИП, заложенная в Covasim, представляет собой набор людей, каждый из которых обладает такими атрибутами, как возраст, пол и социальный статус (рис. 5). При моделировании распространения инфекции модель учитывает частоту контактов, контагиозность вируса и восприимчивость агентов.

Используя открытую среду агентного моделирования Covasim, исследователи могут изучать различные сценарии развития эпидемического процесса, изменяя параметры инфекции, а также моделируя различные вмешательства, такие как социальное дистанцирование, изоляция, тестирование, отслеживание контактов и кампании вакцинации. В статье А. Cattaneo и соавт. среда Covasim использована для оценки эффективности и оптимизации кампании по вакцинации от COVID-19 в итальянском регионе Ломбардия [31]. Возрастная структура населения и характеристики домохозяйств соответствовали данным Итальянского национального института статистики, остальные переменные сети контактов были построены на основе параметров, заложенных в Covasim по умолчанию. Моделирование различных уровней ограничений было реализовано посредством снижения количества контактов в школьном, рабочем и общественном слоях взаимодействий, а также посредством изменения вероятности передачи вируса между членами домохозяйства. Среда Covasim позволяет также задавать и отслеживать динамические характеристики иммунитета агентов. Так, вакцинация, как и перенесённое заболевание, влияет на динамику нейтрализующих антител и уровень защиты агентов; при наличии в популяции различных штаммов вируса реализуется перекрёстный иммунитет с задаваемой степенью эффективности. В работе А. Cattaneo и соавт. модель Covasim показала результаты, согласующиеся с зарегистрированными случаями заражения, выявления и смертности от COVID-19, была определена наиболее эффективная стратегия вакцинации и предложены возрастные приоритеты при введении вакцинации [31].

В целом агентное моделирование на ИП, учитывающей свойства агентов без учёта их локаций, используется для изучения развития эпидемии с учётом различных демографических данных, а также для оценки последствий заболеваний на здоровье населения и экономику. В частности, такое моделирование позволяет проводить оценку эффективности карантинных мероприятий, анализ сценариев вакцинации (в том числе направленных на разные возрастные группы населения), расчёт эко-

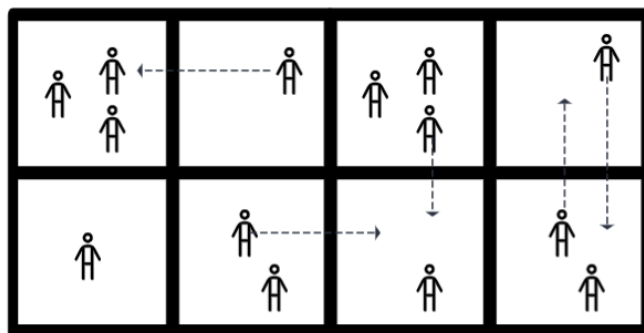


Рис. 6. Представление ИП, учитывающей перемещение идентичных агентов.

Контактом считается столкновение, сближение на критическое расстояние и/или попадание агентов в одну ячейку.

Fig. 6. Representation of an artificial population accounting for the movement of identical agents.

A contact is defined as a collision, approaching a critical distance, and/or agents entering the same cell.

номической стоимости введения ограничительных мер, формирование популяционного иммунитета.

Одними из главных ограничений при создании ИП данного типа являются упрощённое представление сети контактов [32], а также идеализация деятельности индивидов в течение дня [33]. Авторы также подчёркивают потенциальную важность дополнительных свойств агентов, которые не учитываются при таком подходе к моделированию [24, 34].

Подходы к созданию ИП с учётом местоположения агентов и без учёта их свойств (12 статей)

Основная цель моделирования ИП с учётом пространственных перемещений агентов и без учёта их свойств — отражение и мобильности агентов, и пространственной динамики их перемещений при распространении эпидемии.

Наиболее распространённый инструмент для такого подхода — программное обеспечение «NetLogo». В этой среде карта замкнутого пространства представляется либо координатной сеткой, либо набором ячеек, а агенты перемещаются по карте случайно или согласно заданным законам перемещения (рис. 6) [35–37]. Заражение при данном типе представления возможно в том случае, если происходит столкновение, сближение агентов (заражённого и уязвимого) на некоторое пороговое расстояние или попадание агентов в одну ячейку.

В рассмотренных нами агентных моделях, основанных на формировании ИП с учётом местоположения агентов и без учёта их свойств, социальные связи анализировали следующим образом:

- контакт при сближении — 6 (50%) статей;
- разделение на близкие/дальние контакты — 4 (34%);
- разделение на 3 и более типов контактов — 2 (16%).

Наглядным примером такого подхода является работа T. Daghiri и соавт., в который были смоделированы несколько способов дистанцирования и визуально представлены перемещения агентов, полученные в результате различных сценариев [35]. Модель учитывала возможность части агентов не соблюдать дистанцирование. Авторы показали важность соблюдения ограничительных мер и отображали корреляцию между строгостью политики социального дистанцирования и распространением заболевания.

Две основные модели, описывающие перемещение агентов в среде, — случайные блуждания и гравитационная модель, согласно которой сила взаимодействия (интенсивность потоков) зависит от значимости (величины) объектов и расстояния между ними. Например, в работе N. Kishore и соавт. показано, что густонаселённый центр имеет более высокую вероятность посещения агентами [38].

Основными целями исследования при подобном подходе является изучение стратегий дистанцирования, эффективности ограничительных карантинных мер, роли географических факторов в распространении болезни, а также роли суперраспространителей. Такое моделирование позволяет также напрямую отслеживать контакты индивидов в популяции. При этом отсутствует возможность моделирования проведения противоэпидемических мероприятий в разных возрастных и социальных группах населения.

Подходы к созданию ИП, учитывающей локацию агентов и их свойства (56 статей)

При моделировании с учётом как географических, так и демографических данных исследователи стараются достичь максимальной приближённости к реальной популяции, ставится цель создания «цифрового двойника». Обычно сети контактов разделяются на домохозяйства, школы, рабочее пространство и сообщество, а географические особенности учитываются двумя способами: моделированием перемещений агентов по карте или фиксированием местоположения зданий и определением вероятности их посещения агентами. Однако если в группе ИП, учитывающих локацию агентов без учёта их свойств, более распространённым являлось картирование местности, то в работах, учитывающих и свойства агентов, и свойства мест, при создании ИП чаще применялось разделение модельного пространства на условные локации, в которых может находиться агент (рис. 7).

Самой распространённой основой для данного типа моделей стала система FRED (a Framework for Reconstructing Epidemic Dynamics) [39]. FRED использует синтетические группы населения, основанные на данных переписи населения, которые отражают демографическую и географическую

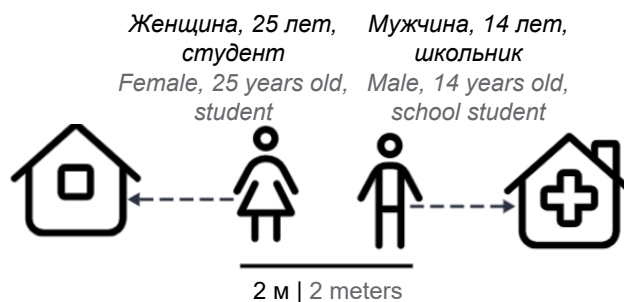


Рис. 7. ИП с учётом локации и свойств агентов.

Возможно наложение сети контактов на карту или моделирование перемещений и сближений агентов.

Fig. 7. Artificial population taking into account the location and characteristics of agents.

It is possible to overlay a network of contacts on a map or to simulate the movements and contacts of agents.

неоднородность населения. У каждого агента есть связанная демографическая и социально-экономическая информация (например, возраст, пол, раса, доход семьи). Раса, наряду с полом и возрастом, может использоваться для учёта известной пространственности заболеваний. Домохозяйства, учебные и лечебные учреждения, места работы и некоторые другие локации имеют привязку к пространственной сетке координат (с разрешением в 1 км). При расчёте вероятности посещения различных географических локаций учитывается доход семьи агента. Одной из особенностей данной модели является возможность учёта динамической демографии агентов, включая старение, рождаемость и смертность. На основе данной модели были выполнены работы [40–43]. В настоящее время FRED продолжает активно использоваться для изучения сезонного гриппа.

M.G. Krauland и соавт. изучали влияние снижения иммунитета населения, вызванное ограничением активности вируса, на его динамику в последующие годы [43]. Моделирование проводилось для населения, представляющего округ Аллегейни (Пенсильвания, США) с населением около 1,2 млн человек. Данный округ включает в себя как городские, так и пригородные районы, и он достаточно велик, чтобы исследовать закономерности распространения гриппа. Согласно полученным результатам, снижение уровня заболеваемости в первом сезоне приведёт к увеличению заболеваемости во втором сезоне. Компенсировать снижение иммунитета населения может помочь расширение масштабов вакцинации. В зависимости от перекрёстного иммунитета от перенесённой ранее инфекции и трансмиссивности штамма уровень заболеваемости может вырасти до 50%.

Многие из рассматриваемых в этом разделе публикаций описывают усложнённые модели, где к базовой версии ИП были добавлены дополнительные параметры. В частности, A. Truszkowska

и соавт. модифицировали базовую версию модели добавлением в ИП разделения работоспособного населения на сферы деятельности [44]. Это позволило отразить в модели сложную структуру занятости. А в статье С. Fosco и соавт. рабочая сила была разделена на 4 группы в соответствии с различной мобильностью в случае введения карантинных мер [45].

В ряде работ было уделено большее внимание разделению дня на временные участки. В 24 моделях были учтены временные характеристики мобильности агентов (учёт расписания, деление дня).

К целям подходов, учитывающих и свойства агентов, и свойства локаций, относятся:

- анализ управленческих решений;
- поиск оптимального подхода к осуществлению нефармацевтических вмешательств;
- изучение распространения инфекции с использованием GPS;
- изучение распространения патогена на ранних стадиях;
- изучение распространения разных штаммов;
- моделирование отслеживания контактов и передачи вируса;
- изучение распространения вируса в разных странах/городах;
- изучение стратегий вакцинации;
- изучение защиты населения в зависимости от прошедшего сезона.

При формировании ИП данного типа разработчики моделей часто прибегают к различным упрощениям для возможности включения дополнительных характеристик, имеющих, по их мнению, решающее значение [46]. Некоторые предположения превосходят нынешнее понимание механизмов развития эпидемии, что позволяет включать их в исследование только в приближенной форме [47]. В качестве основы для создания ИП-цифрового двойника принято использовать обновляющиеся реальные данные, которые затем проецируются на выборку меньшего размера, чем население в целом. Даже если выборка повторяет структуру реальной популяции, полученные для неё результаты могут не в полной мере отражать ситуацию в реальной популяции [48].

Усложнение формирования ИП

При создании реалистичной популяции для эпидемиологических исследований необходим обширный набор параметров, учёт каждого из которых на данный момент невозможен. Базовые версии моделей позволяют описывать эпидемиологический процесс в общем виде и проводить исследование закономерностей и поиск тенденций в динамике эпидемий.

В целях большей правдоподобности некоторые авторы прибегали к усложнению ИП путём введения следующих параметров:

- сезонность;
- сопутствующие заболевания;
- динамический иммунитет;
- этническая принадлежность;
- доход;
- транспортные потоки.

Неоднородность популяции с точки зрения восприимчивости индивидов к вирусу и тяжести протекания болезни может быть учтена с помощью фактора сопутствующих заболеваний. В самом простом варианте учёт сопутствующих заболеваний возможен благодаря бинарному параметру (есть или нет) [28]. В более сложном варианте за счёт введения дополнительного модуля расчёта фактора рисков возможен учёт как конкретных заболеваний (диабет 1-го и 2-го типов, гипертония, сердечно-сосудистые заболевания и др.), так и факторов риска, связанных с образом жизни (курение, физическая активность, повышенный индекс массы тела и др.) [49].

В некоторых работах было выполнено моделирование динамического иммунитета. Популярной основой для учёта иммунитета стала модель Covasim [50–52], которая предоставляет возможность динамического изменения значений уровня специфической иммунной защиты для каждого агента и популяции в целом.

Сезонность может влиять как на свойства возбудителя заболевания (в основном используется при моделировании сезонного гриппа), так и на другие параметры (влияние среднесуточной температуры на восприимчивость, влияние времени года на сеть контактов с распределением по полу и др.) [43, 53–58].

При наличии соответствующих данных возможно добавление социологических параметров агентов — уровня дохода и этнической принадлежности, при этом в модели эти характеристики могут отражаться по-разному. В статье М.Д. Patel и соавт. люди разной национальности обладали разной восприимчивостью к вирусу и по-разному переносили заболевание [59]. В работе С. Fosco и соавт. уровень дохода влиял на возможность работников оставаться дома во время эпидемии [45]. В статье М. Thakur и соавт. доход прямо коррелировал со снижением уровня вакцинации [60].

Моделирование транспортных потоков внутри ИП было использовано в 15 (10%) работах, 8 из которых учитывали географические и демографические данные о населении, 7 — только демографические.

Представление транспорта было возможно в виде:

- дополнительной случайной сети контактов;
- добавления ячеек транспорта/остановок;
- построения общих маршрутов агентов.

Некоторые исследователи прибегали к разделению транспорта на виды:

- автомобиль, попутный транспорт, общественный транспорт, ходьба и др. (с возможностью заразиться только в автомобиле и общественном транспорте) [25];
- метро, автобус, маршрутное такси [61].

Заключение

Формирование ИП — ключевой момент в построении предсказательных агентных моделей. Использование АОМ позволяет рассматривать популяцию на уровне индивидуальных представителей, что открывает новые возможности для изучения развития эпидемий и анализа мер по предотвращению распространения инфекции.

В нашем обзоре на основании анализа материала 144 оригинальных исследований рассмотрены 4 варианта построения ИП, обладающих разными степенями детализации. Мы намеренно использовали для поиска литературы исключительно базу данных PubMed, поскольку она ориентирована на биомедицинские исследования, включая эпидемиологию. Этот выбор позволил проанализировать основные публикации, опубликованные в рейтинговых рецензируемых журналах в интересующей нас области, но не исключено, что какая-то часть доступных публикаций не была рассмотрена. Также в обзоре были рассмотрены статьи, опубликованные с начала пандемии COVID-19. Это позволило проанализировать наиболее актуальный срез работ, сделав акцент на востребованных решениях в формировании ИП, при этом в обзор не вошли ранее опубликованные модели EpiSimS [62] и TRANSIMS [63].

Надо отметить, что все рассмотренные варианты построения ИП оказались пригодными для решения заявленного разработчиками перечня задач в области эпидемиологии инфекционных заболеваний. Ограничения настоящего исследования продиктованы невозможностью проведения экспериментального подтверждения успешности реализации представленных АОМ для достижения поставленных целей и выполнения задач в рассмотренных исследованиях. В большинстве случаев нет возможности критически осмыслить модель ввиду наличия общего, часто поверхностного описания её устройства, приводимого в публикации, и отсутствия доступа к исходному коду модели. Анализ выбранной литературы проводился в значительной степени на основе оценки результатов авторами работ. В большинстве случаев авторы не приводят анализ чувствительности результата к параметрам моделируемого патогена и ИП. Такой анализ является важной характеристикой сложных моделей и может показать реальную важность параметров, и данный обзор выявил систематический недостаток значительной части проанализированных работ.

Среди выявленных ограничений в создании ИП наиболее существенными являются недоста-

точность и анахронизм реальных демографических и статистических данных, необходимых для последующего учёта в модели. Работы, учитывающие свойства агентов в ИП, как правило, полагаются на данные переписи населения или социологические опросы, которые не всегда обладают требуемой детализацией. Модели, включающие передвижение агентов на городской карте, используют информацию, полученную из специализированных приложений, баз данных и картографических сервисов, таких как Google Maps и OpenStreetMap. Получение этих данных и их учёт в модели может быть сложной задачей, поэтому в ряде случаев использовали упрощённые модели, основанные на предположениях о поведении и взаимодействии агентов.

Использование сложных и разнообразных реальных демографических и статистических данных возможно при изучении небольших групп (на уровне помещения, здания), однако для более масштабных исследований вычислительная сложность в случае увеличения числа параметров или размера популяции может превысить технические возможности вычисления, привести к получению недостоверных или неинтерпретируемых результатов.

Дальнейшие исследования в области создания и использования ИП при агентном моделировании могут быть направлены на оптимизацию методов параметризации моделей и поиск баланса между детализацией и интерпретируемостью модели для достижения максимальной точности и достоверности результатов. При создании ИП важно учесть факторы, на которые может быть направлен контроль. Это позволит улучшить качество принимаемых решений в области общественного здравоохранения и повысить эффективность противодействия эпидемиям.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Kirkeby C., Brookes V.J., Ward M.P., et al. A practical introduction to mechanistic modeling of disease transmission in veterinary science. *Front. Vet. Sci.* 2021;7:546651. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.546651>
2. Hudson E.G., Brookes V.J., Ward M.P. Demographic studies of owned dogs in the Northern Peninsula Area, Australia, to inform population and disease management strategies. *Aust. Vet. J.* 2018;96(12):487–94. DOI: <https://doi.org/10.1111/avj.12766>
3. Glushchenko O.E., Prianchnikov N.A., Olekhovich E.I., et al. VERA: agent-based modeling transmission of antibiotic resistance between human pathogens and gut microbiota. *Bioinformatics.* 2019;35(19):3803–11. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz154>
4. Decelle A., Krzakala F., Moore C., Zdeborová L. Asymptotic analysis of the stochastic block model for modular networks and its algorithmic applications. *Phys. Rev. E. Stat. Nonlin. Soft Matter. Phys.* 2011;84(6 Pt 2):066106. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.84.066106>
5. Ackland G.J., Ackland J.A., Antonioletti M., Wallace D.J. Fitting the reproduction number from UK coronavirus case data and why it is close to 1. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.* 2022;380(2233):20210301. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsta.2021.0301>

6. Creswell R., Augustin D., Bouros I., et al. Heterogeneity in the onwards transmission risk between local and imported cases affects practical estimates of the time-dependent reproduction number. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.* 2022;380(2233):20210308. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsta.2021.0308>
7. Van Dyke Parunak H., Savit R., Riolo R.L. Agent-based modeling vs. equation-based modeling: A case study and users' guide. *Multi-Agent Systems and Agent-Based Simulation.* 2010;1534:10–25. DOI: https://doi.org/10.1007/10692956_2
8. Rahmandad H., Sterman J. Heterogeneity and network structure in the dynamics of diffusion: comparing agent-based and differential equation models. *Management Science.* 2008;54:998–1014. DOI: <https://doi.org/10.1287/mnsc.1070.0787>
9. Shanta S.S., Biswas M.H.A. The impact of media awareness in controlling the spread of infectious diseases in terms of SIR model. *Mathematical Modelling of Engineering Problems.* 2020;7:368–76. DOI: <https://doi.org/10.18280/mmep.070306>
10. Kerr C.C., Stuart R.M., Mistry D., et al. Covasim: an agent-based model of COVID-19 dynamics and interventions. *PLoS Comput. Biol.* 2021;17(7):e1009149. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009149>
11. Gozzi N., Tizzoni M., Chinazzi M., et al. Estimating the effect of social inequalities on the mitigation of COVID-19 across communities in Santiago de Chile. *Nat. Commun.* 2021;12(1):2429. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22601-6>
12. Squazzoni F., Polhill J.G., Edmonds B., et al. Computational models that matter during a global pandemic outbreak: a call to action. *Journal of Artificial Societies and Social Simulation.* 2020; 23(2). DOI: <https://doi.org/10.18564/jasss.4298>
13. Lux T. The social dynamics of COVID-19. *Physica A.* 2021;567:125710. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physa.2020.125710>
14. Conte R., Paolucci M. On agent-based modeling and computational social science. *Front. Psychol.* 2014;5:668. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00668>
15. Lux T., Zwinkels R.C. Empirical Validation of Agent-Based Models. In: *Handbook of Computational Economics. Volume 4.* Elsevier;2018:437–88. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.hescom.2018.02.003>
16. Tracy M., Cerdá M., Keyes K.M. Agent-based modeling in public health: current applications and future directions. *Annu. Rev. Public Health.* 2018;39:77–94. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-040617-014317>
17. Bonabeau E. Agent-based modeling: methods and techniques for simulating human systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002;99(Suppl. 3):7280–7. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.082080899>
18. Marks R.E. Validating simulation models: a general framework and four applied examples. *Comput. Econ.* 2007;30:265–90. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10614-007-9101-7>
19. Whitman J., Jayaprakash C. Stochastic modeling of influenza spread dynamics with recurrences. *PLoS One.* 2020;15(4):e0231521. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231521>
20. Guo X., Tong J., Chen P., Fan W. The suppression effect of emotional contagion in the COVID-19 pandemic: a multi-layer hybrid modelling and simulation approach. *PLoS One.* 2021;16(7):e0253579. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253579>
21. Chung N.N., Chew L.Y. Modelling Singapore COVID-19 pandemic with a SEIR multiplex network model. *Sci. Rep.* 2021;11(1):10122. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89515-7>
22. Moghadas S.M., Fitzpatrick M.C., Shoukat A., et al. Simulated identification of silent COVID-19 infections among children and estimated future infection rates with vaccination. *JAMA Netw Open.* 2021;4(4):e217097. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.7097>
23. Sah P., Vilches T.N., Pandey A., et al. Estimating the impact of vaccination on reducing COVID-19 burden in the United States: December 2020 to March 2022. *J. Glob. Health.* 2022;12:03062. DOI: <https://doi.org/10.7189/jogh.12.03062>
24. Català M., Li X., Prats C., Prieto-Alhambra D. The impact of prioritisation and dosing intervals on the effects of COVID-19 vaccination in Europe: an agent-based cohort model. *Sci. Rep.* 2021;11(1):18812. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98216-0>
25. Truskowska A., Thakore M., Zino L., et al. Designing the safe reopening of US towns through high-resolution agent-based modeling. *Adv. Theory Simul.* 2021;4(9):2100157. DOI: <https://doi.org/10.1002/adts.202100157>
26. Truskowska A., Zino L., Butail S., et al. Exploring a COVID-19 Endemic scenario: high-resolution agent-based modeling of multiple variants. *Adv. Theory Simul.* 2023;6(1):2200481. DOI: <https://doi.org/10.1002/adts.202200481>
27. Truskowska A., Zino L., Butail S., et al. Predicting the effects of waning vaccine immunity against COVID-19 through high-resolution agent-based modeling. *Adv. Theory Simul.* 2022;5(6):2100521. DOI: <https://doi.org/10.1002/adts.202100521>
28. Hadley E., Rhea S., Jones K., et al. Enhancing the prediction of hospitalization from a COVID-19 agent-based model: A Bayesian method for model parameter estimation. *PLoS One.* 2022;17(3):e0264704. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264704>
29. Rodríguez J.P., Aleta A., Moreno Y. Digital cities and the spread of COVID-19: Characterizing the impact of non-pharmaceutical interventions in five cities in Spain. *Front. Public Health.* 2023;11:1122230. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1122230>
30. Chiba A. Modeling the effects of contact-tracing apps on the spread of the coronavirus disease: Mechanisms, conditions, and efficiency. *PLoS One.* 2021;16(9):e0256151. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256151>
31. Cattaneo A., Vitali A., Mazzoleni M., Previdi F. An agent-based model to assess large-scale COVID-19 vaccination campaigns for the Italian territory: The case study of Lombardy region. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2022;224:107029. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2022.107029>
32. Krivorotko O., Sosnovskaia M., Vashchenko I., et al. Agent-based modeling of COVID-19 outbreaks for New York state and UK: Parameter identification algorithm. *Infect. Dis. Model.* 2022;7(1):30–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idm.2021.11.004>
33. Koichubekov B., Takuadina A., Korshukov I., et al. The epidemiological and economic impact of COVID-19 in Kazakhstan: An agent-based modeling. *Healthcare (Basel).* 2023;11(22):2968. DOI: <https://doi.org/10.3390/healthcare11222968>
34. Hinch R., Probert W.J.M., Nurtay A., et al. Open-ABM-COVID19 – an agent-based model for non-pharmaceutical interventions against COVID-19 including contact tracing. *PLoS Comput. Biol.* 2021;17(7):e1009146. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009146>
35. Daghri T., Ozmen O. Quantifying the effects of social distancing on the spread of COVID-19. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021;18(11):5566. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18115566>
36. Li H., Zhang H. Cost-effectiveness analysis of COVID-19 screening strategy under China's dynamic zero-case policy. *Front. Public Health.* 2023;11:1099116. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1099116>
37. Wang Q., Shi N., Huang J., et al. Cost-effectiveness of public health measures to control COVID-19 in China: A microsimulation modeling study. *Front. Public Health.* 2022;9:726690. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.726690>
38. Kishore N., Kahn R., Martinez P.P., et al. Lockdowns result in changes in human mobility which may impact the epidemiological dynamics of SARS-CoV-2. *Sci. Rep.* 2021;11(1):6995. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86297-w>

39. Grefenstette J.J., Brown S.T., Rosenfeld R., et al. FRED (a Framework for Reconstructing Epidemic Dynamics): an open-source software system for modeling infectious diseases and control strategies using census-based populations. *BMC Public Health*. 2013;13:940. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-940>
40. Krauland M.G., Zimmerman R.K., Williams K.V., et al. Agent-based model of the impact of higher influenza vaccine efficacy on seasonal influenza burden. *Vaccine X*. 2023;13:100249. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvax.2022.100249>
41. Williams K.V., Krauland M.G., Harrison L.H., et al. Can a two-dose influenza vaccine regimen better protect older adults? An agent-based modeling study. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(11):1799. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines10111799>
42. Woodul R.L., Delamater P.L., Woodburn M. Validating model output in the absence of ground truth data: a COVID-19 case study using the Simulator of Infectious Disease Dynamics in North Carolina (SIDDC-NC) model. *Health Place*. 2023;83:103065. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2023.103065>
43. Krauland M.G., Galloway D.D., Raviotta J.M., et al. Impact of low rates of influenza on next-season influenza infections. *Am. J. Prev. Med.* 2022;62(4):503–10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2021.11.007>
44. Truszkowska A., Fayed M., Wei S., et al. Urban determinants of COVID-19 spread: a comparative study across three cities in New York state. *J. Urban. Health*. 2022;99(5):909–21. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11524-022-00623-9>
45. Fosco C., Zurita F. Assessing the short-run effects of lockdown policies on economic activity, with an application to the Santiago Metropolitan Region, Chile. *PLoS One*. 2021;16(6):e0252938. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252938>
46. Maziarz M., Zach M. Agent-based modelling for SARS-CoV-2 epidemic prediction and intervention assessment: A methodological appraisal. *J. Eval. Clin. Pract.* 2020; 26(5): 1352–60. DOI: <https://doi.org/10.1111/jep.13459>
47. Gupta P., Maharaj T., Weiss M., et al. Proactive contact tracing. *PLOS Digit. Health*. 2023;2(3):e0000199. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pdig.0000199>
48. Staffini A., Svensson A.K., Chung U.I., Svensson T. An agent-based model of the local spread of SARS-CoV-2: modeling study. *JMIR Med. Inform.* 2021;9(4):e24192. DOI: <https://doi.org/10.2196/24192>
49. Mintram K., Anagnostou A., Anokye N., et al. CALMS: Modelling the long-term health and economic impact of COVID-19 using agent-based simulation. *PLoS One*. 2022;17(8):e0272664. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272664>
50. Silva M.E.P., Fyles M., Pi L., et al. The role of regular asymptomatic testing in reducing the impact of a COVID-19 wave. *Epidemics*. 2023;44:100699. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2023.100699>
51. Pham Q.D., Stuart R.M., Nguyen T.V., et al. Estimating and mitigating the risk of COVID-19 epidemic rebound associated with reopening of international borders in Vietnam: a modelling study. *Lancet Glob. Health*. 2021;9(7):e916–24. DOI: [https://doi.org/10.1016/s2214-109x\(21\)00103-0](https://doi.org/10.1016/s2214-109x(21)00103-0)
52. Sanz-Leon P., Hamilton L.H.W., Raison S.J., et al. Modelling herd immunity requirements in Queensland: impact of vaccination effectiveness, hesitancy and variants of SARS-CoV-2. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.* 2022;380(2233):20210311. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsta.2021.0311>
53. Pais C.M., Godano M.I., Juarez E., et al. City-scale model for COVID-19 epidemiology with mobility and social activities represented by a set of hidden Markov models. *Comput. Biol. Med.* 2023;160:106942. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2023.106942>
54. Reguly I.Z., Cserscsik D., Juhász J., et al. Microsimulation based quantitative analysis of COVID-19 management strategies. *PLoS Comput. Biol.* 2022;18(1):e1009693. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009693>
55. Barthe G., Viti R., Druschel P., et al. Listening to Bluetooth beacons for epidemic risk mitigation. *Sci. Rep.* 2022;12(1):5558. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09440-1>
56. Bicher M., Ripinger C., Schneckenreither G., et al. Model based estimation of the SARS-CoV-2 immunization level in Austria and consequences for herd immunity effects. *Sci. Rep.* 2022;12(1):2872. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06771-x>
57. Nagpal S., Kumar R., Noronha R.F., et al. Seasonal variations in social contact patterns in a rural population in north India: Implications for pandemic control. *PLoS One*. 2024;19(2):e0296483. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0296483>
58. Souther A., Chang M.H., Tassier T. It's worth a shot: urban density, endogenous vaccination decisions, and dynamics of infectious disease. *J. Econ. Interact. Coord.* 2023;18(1):163–89. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11403-022-00367-4>
59. Patel M.D., Rosenstrom E., Ivy J.S., et al. Association of simulated COVID-19 vaccination and nonpharmaceutical interventions with infections, hospitalizations, and mortality. *JAMA Netw. Open*. 2021;4(6):e2110782. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.10782>
60. Thakur M., Zhou R., Mohan M., et al. COVID's collateral damage: likelihood of measles resurgence in the United States. *BMC Infect. Dis.* 2022;22(1):743. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07703-w>
61. Rykovanov G.N., Lebedev S.N., Zatsepin O.V., et al. Agent-based simulation of the COVID-19 epidemic in Russia. *Her. Russ. Acad. Sci.* 2022;92(4):479–87. DOI: <https://doi.org/10.1134/s1019331622040219>
62. Stroud P., Del Valle S., Sydoriak S., et al. Spatial dynamics of pandemic influenza in a massive artificial society, journal of artificial societies and social simulation. *J. Artif. Soc. Soc. Simul.* 2007; 10(4): 1–9.
63. Barrett C.L., Beckman R.J., Berkgigler K.P., et al. TRANSIMS: Transportation analysis simulation system. In: *Portland Study Reports*. Los Alamos, NM;1999.
64. Kaxiras E., Neofotistos G. Multiple epidemic wave model of the COVID-19 pandemic: modeling study. *J. Med. Internet Res.* 2020;22(7):e20912. DOI: <https://doi.org/10.2196/20912>
65. Quilty B.J., Clifford S., Hellewell J., et al. Quarantine and testing strategies in contact tracing for SARS-CoV-2: a modelling study. *Lancet Public Health*. 2021;6(3):e175–83. DOI: [https://doi.org/10.1016/s2468-2667\(20\)30308-x](https://doi.org/10.1016/s2468-2667(20)30308-x)
66. Gwizdała T. Viral disease spreading in grouped population. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2020;197:105715. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2020.105715>
67. Sood M., Sridhar A., Eletreby R., et al. Spreading processes with mutations over multilayer networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2023;120(24):e2302245120. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2302245120>
68. Streilein W., Finklea L., Schuldt D., et al. Evaluating COVID-19 exposure notification effectiveness with SimAEN: A simulation tool designed for public health decision making. *Public Health Rep.* 2022;137(2_suppl):83S–9S. DOI: <https://doi.org/10.1177/00333549221116361>
69. Kim Y., Ryu H., Lee S. Effectiveness of intervention strategies on MERS-CoV transmission dynamics in South Korea, 2015: Simulations on the network based on the real-world contact data. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2021;18(7):3530. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18073530>
70. Kwon O., Son W.S., Kim J.Y., Kim J.H. Intervention effects in the transmission of COVID-19 depending on the detection rate and extent of isolation. *Epidemiol. Health*. 2020;42:e2020045. DOI: <https://doi.org/10.4178/epih.e2020045>
71. Tatsukawa Y., Arefin M.R., Kuga K., Tanimoto J. An agent-based nested model integrating within-host and between-host mecha-

- nisms to predict an epidemic. *PLoS One*. 2023;18(12):e0295954. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0295954>
72. Stapelberg N.J.C., Smoll N.R., Randall M., et al. A Discrete-Event, Simulated Social Agent-Based Network Transmission (DESSABNeT) model for communicable diseases: Method and validation using SARS-CoV-2 data in three large Australian cities. *PLoS One*. 2021;16(5):e0251737. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251737>
 73. Thompson J., McClure R., Blakely T., et al. Modelling SARS-CoV-2 disease progression in Australia and New Zealand: an account of an agent-based approach to support public health decision-making. *Aust. N. Z. J. Public Health*. 2022;46(3):292–303. DOI: <https://doi.org/10.1111/1753-6405.13221>
 74. Hinch R., Panovska-Griffiths J., Probert W.J.M., et al. Estimating SARS-CoV-2 variant fitness and the impact of interventions in England using statistical and geo-spatial agent-based models. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci*. 2022;380(2233):20210304. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsta.2021.0304>
 75. Tatapudi H., Das R., Das T.K. Impact assessment of full and partial stay-at-home orders, face mask usage, and contact tracing: An agent-based simulation study of COVID-19 for an urban region. *Glob. Epidemiol*. 2020;2:100036. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gloepi.2020.100036>
 76. Jahn B., Sroczynski G., Bicher M., et al. Targeted COVID-19 vaccination (TAV-COVID) considering limited vaccination capacities – an agent-based modeling evaluation. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(5):434. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines9050434>
 77. Tatapudi H., Das T.K. Impact of school reopening on pandemic spread: a case study using an agent-based model for COVID-19. *Infect. Dis. Model*. 2021;6:839–47. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idm.2021.06.007>
 78. Romero-Brufau S., Chopra A., Ryu A.J., et al. Public health impact of delaying second dose of BNT162b2 or mRNA-1273 covid-19 vaccine: simulation agent based modeling study. *BMJ*. 2021;373:n1087. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.n1087>
 79. Goldenbogen B., Adler S.O., Bodeit O., et al. Control of COVID-19 outbreaks under stochastic community dynamics, bimodality, or limited vaccination. *Adv. Sci. (Weinh)*. 2022;9(23):e2200088. DOI: <https://doi.org/10.1002/advs.202200088>
 80. Moghadas S.M., Vilches T.N., Zhang K., et al. Evaluation of COVID-19 vaccination strategies with a delayed second dose. *PLoS Biol*. 2021;19(4):e3001211. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001211>
 81. Keskinocak P., Oruc B.E., Baxter A., et al. The impact of social distancing on COVID19 spread: State of Georgia case study. *PLoS One*. 2020;15(10):e0239798. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239798>
 82. Berc L., Diviák T., Kuběna A., et al. On the contact tracing for COVID-19: A simulation study. *Epidemics*. 2023;43:100677. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2023.100677>
 83. Moghadas S.M., Fitzpatrick M.C., Sah P., et al. The implications of silent transmission for the control of COVID-19 outbreaks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2020;117(30):17513–5. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2008373117>
 84. Ben-Zuk N., Daon Y., Sasson A., et al. Assessing COVID-19 vaccination strategies in varied demographics using an individual-based model. *Front. Public Health*. 2022;10:966756. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.966756>
 85. Nguyen Q.D., Prokopenko M. A general framework for optimising cost-effectiveness of pandemic response under partial intervention measures. *Sci. Rep*. 2022;12(1):19482. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23668-x>
 86. Abdollahi E., Haworth-Brockman M., Keynan Y., et al. Simulating the effect of school closure during COVID-19 outbreaks in Ontario, Canada. *BMC Med*. 2020;18(1):230. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01705-8>
 87. Zhang K., Vilches T.N., Tariq M., et al. The impact of mask-wearing and shelter-in-place on COVID-19 outbreaks in the United States. *Int. J. Infect. Dis*. 2020;101:334–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.002>
 88. Shoukat A., Wells C.R., Langley J.M., et al. Projecting demand for critical care beds during COVID-19 outbreaks in Canada. *CMAJ*. 2020;192(19):E489–96. DOI: <https://doi.org/10.1503/cmaj.200457>
 89. Eilersen A., Sneppen K. Cost-benefit of limited isolation and testing in COVID-19 mitigation. *Sci. Rep*. 2020;10(1):18543. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75640-2>
 90. Hotton A.L., Ozik J., Kaligotla C., et al. Impact of changes in protective behaviors and out-of-household activities by age on COVID-19 transmission and hospitalization in Chicago, Illinois. *Ann. Epidemiol*. 2022;76:165–73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2022.06.005>
 91. Aleta A., Martin-Corral D., Bakker M.A., et al. Quantifying the importance and location of SARS-CoV-2 transmission events in large metropolitan areas. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2022;119(26):e2112182119. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2112182119>
 92. Bicher M., Ripinger C., Zechmeister M., et al. An iterative algorithm for optimizing COVID-19 vaccination strategies considering unknown supply. *PLoS One*. 2022;17(5):e0265957. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265957>
 93. Nishi A., Dewey G., Endo A., et al. Network interventions for managing the COVID-19 pandemic and sustaining economy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2020;117(48):30285–94. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2014297117>
 94. Weng X., Chen Q., Sathapathi T.K., et al. Impact of school operating scenarios on COVID-19 transmission under vaccination in the U.S.: an agent-based simulation model. *Sci. Rep*. 2023;13(1):12836. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37980-7>
 95. Vilches T.N., Abdollahi E., Cipriano L.E., et al. Impact of non-pharmaceutical interventions and vaccination on COVID-19 outbreaks in Nunavut, Canada: a Canadian Immunization Research Network (CIRN) study. *BMC Public Health*. 2022;22(1):1042. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12889-022-13432-1>
 96. Ng V., Fazil A., Waddell L.A., et al. Projected effects of non-pharmaceutical public health interventions to prevent resurgence of SARS-CoV-2 transmission in Canada. *CMAJ*. 2020;192(37):E1053–64. DOI: <https://doi.org/10.1503/cmaj.200990>
 97. Scott N., Abeyuriya R.G., Delpont D., et al. COVID-19 epidemic modelling for policy decision support in Victoria, Australia 2020–2021. *BMC Public Health*. 2023;23(1):988. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12889-023-15936-w>
 98. Moghadas S.M., Vilches T.N., Zhang K., et al. The impact of vaccination on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreaks in the United States. *Clin. Infect. Dis*. 2021;73(12):2257–64. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciab079>
 99. Alagoz O., Sethi A.K., Patterson B.W., et al. Effect of timing of and adherence to social distancing measures on COVID-19 burden in the United States: A simulation modeling approach. *Ann. Intern. Med*. 2021;174(1):50–7. DOI: <https://doi.org/10.7326/m20-4096>
 100. Shi P., Yan J., Keskinocak P., et al. The impact of opening dedicated clinics on disease transmission during an influenza pandemic. *PLoS One*. 2020;15(8):e0236455. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236455>
 101. Wu S., Huang Z., Grant-Muller S., et al. Modelling the reopen strategy from dynamic zero-COVID in China considering the sequela and reinfection. *Sci. Rep*. 2023;13(1):7343. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34207-7>
 102. Moreno López J.A., Arregui García B., Bentkowski P., et al. Anatomy of digital contact tracing: Role of age, transmission setting, adoption, and case detection. *Sci. Adv*.

ОБЗОРЫ

- 2021;7(15):cabd8750.
DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd8750>
103. Scott N., Palmer A., Delpont D., et al. Modelling the impact of relaxing COVID-19 control measures during a period of low viral transmission. *Med. J. Aust.* 2021;214(2):79–83.
DOI: <https://doi.org/10.5694/mja2.50845>
104. Abeysuriya R.G., Delpont D., Stuart R.M., et al. Preventing a cluster from becoming a new wave in settings with zero community COVID-19 cases. *BMC Infect. Dis.* 2022;22(1):232.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07180-1>
105. Houdroge F., Palmer A., Delpont D., et al. Frequent and unpredictable changes in COVID-19 policies and restrictions reduce the accuracy of model forecasts. *Sci. Rep.* 2023;13(1):1398.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27711-3>
106. Sneppen K., Nielsen B.F., Taylor R.J., Simonsen L. Overdispersion in COVID-19 increases the effectiveness of limiting nonrepetitive contacts for transmission control. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2021;118(14):e2016623118.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2016623118>
107. Zhang X., Chen B., Le J., Hu Y. Impact of different nucleic acid testing scenarios on COVID-19 transmission. *Heliyon.* 2023;10(1):e23700.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23700>
108. Li A., Wu J., Moghadas S.M. Epidemic dynamics with time-varying transmission risk reveal the role of disease stage-dependent infectiousness. *J. Theor. Biol.* 2023;573:111594.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2023.111594>
109. Delpont D., Sacks-Davis R., Abeysuriya R.G., et al. Lives saved by public health restrictions over the Victorian COVID-19 Delta variant epidemic wave, Aug-Nov 2021. *Epidemics.* 2023;44:100702.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2023.100702>
110. Han A.X., Girdwood S.J., Khan S., et al. Strategies for using antigen rapid diagnostic tests to reduce transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in low- and middle-income countries: a mathematical modelling study applied to Zambia. *Clin. Infect. Dis.* 2023;76(4):620–30.
DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciac814>
111. Zachreson C., Fair K.M., Harding N., Prokopenko M. Interfering with influenza: nonlinear coupling of reactive and static mitigation strategies. *J. R. Soc. Interface.* 2020;17(165):20190728.
DOI: <https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0728>
112. Pandey A., Fitzpatrick M.C., Moghadas S.M., et al. Modelling the impact of a high-uptake bivalent booster scenario on the COVID-19 burden and healthcare costs in New York City. *Lancet Reg. Health Am.* 2023;24:100555.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lana.2023.100555>
113. Sanz-Leon P., Stevenson N.J., Stuart R.M., et al. Risk of sustained SARS-CoV-2 transmission in Queensland, Australia. *Sci. Rep.* 2022;12(1):6309.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10349-y>
114. Groves-Kirkby N., Wakeman E., Patel S., et al. Large-scale calibration and simulation of COVID-19 epidemiologic scenarios to support healthcare planning. *Epidemics.* 2023;42:100662.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2022.100662>
115. Sah P., Vilches T.N., Moghadas S.M., et al. Return on investment of the COVID-19 vaccination campaign in New York city. *JAMA Netw Open.* 2022;5(11):e2243127.
DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.43127>
116. Goldberg L.A., Jorritsma J., Komjáthy J., Lapinskas J. Increasing efficacy of contact-tracing applications by user referrals and stricter quarantining. *PLoS One.* 2021;16(5):e0250435.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250435>
117. Zhu Y., Shen R., Dong H., Wang W. Spatial heterogeneity and infection patterns on epidemic transmission disclosed by a combined contact-dependent dynamics and compartmental model. *PLoS One.* 2023;18(6):e0286558.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286558>
118. Giacomelli G. A full-scale agent-based model to hypothetically explore the impact of lockdown, social distancing, and vaccination during the COVID-19 pandemic in Lombardy, Italy: model development. *JMIRx Med.* 2021;2(3):e24630.
DOI: <https://doi.org/10.2196/24630>
119. Kustudic M., Niu B., Liu Q. Agent-based analysis of contagion events according to sourcing locations. *Sci. Rep.* 2021;11(1):16032.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95336-5>
120. Lima L.L., Atman A.P.F. Impact of mobility restriction in COVID-19 superspreading events using agent-based model. *PLoS One.* 2021;16(3):e0248708.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248708>
121. Eilersen A., Sneppen K. SARS-CoV-2 superspreading in cities vs the countryside. *APMIS.* 2021;129(7):401–7.
DOI: <https://doi.org/10.1111/apm.13120>
122. Gugole F., Coffeng L.E., Edeling W., et al. Uncertainty quantification and sensitivity analysis of COVID-19 exit strategies in an individual-based transmission model. *PLoS Comput. Biol.* 2021;17(9):e1009355.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009355>
123. Wallentin G., Kaziyeva D., Reibersdorfer-Adelsberger E. COVID-19 intervention scenarios for a long-term disease management. *Int. J. Health Policy Manag.* 2020;9(12):508–16. DOI: <https://doi.org/10.34172/ijhpm.2020.130>
124. Bissett K.R., Cadena J., Khan M., Kuhlman C.J. Agent-Based Computational Epidemiological Modeling. *J. Indian Inst. Sci.* 2021;101(3):303–27.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s41745-021-00260-2>
125. Murakami T., Sakuragi S., Deguchi H., Nakata M. Agent-based model using GPS analysis for infection spread and inhibition mechanism of SARS-CoV-2 in Tokyo. *Sci. Rep.* 2022;12(1):20896.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25480-z>
126. Truszkowska A., Behring B., Hasanyan J., et al. High-resolution agent-based modeling of COVID-19 spreading in a small town. *Adv. Theory Simul.* 2021;4(3):2000277.
DOI: <https://doi.org/10.1002/adts.202000277>
127. Dong T., Dong W., Xu Q. Agent simulation model of COVID-19 epidemic agent-based on GIS: A case study of Huangpu district, Shanghai. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2022;19(16):10242.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph191610242>
128. Castro B.M., Reis M.M., Salles R.M. Multi-agent simulation model updating and forecasting for the evaluation of COVID-19 transmission. *Sci. Rep.* 2022;12(1):22091.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22945-z>
129. Gostoli U., Silverman E. An agent-based model of social care provision during the early stages of Covid-19. *Sci. Rep.* 2022;12(1):16534.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20846-9>
130. Chang S.L., Cliff O.M., Zachreson C., Prokopenko M. Simulating transmission scenarios of the delta variant of SARS-CoV-2 in Australia. *Front. Public Health.* 2022;10:823043.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.823043>
131. Nguyen Q.D., Chang S.L., Jamerlan C.M., Prokopenko M. Measuring unequal distribution of pandemic severity across census years, variants of concern and interventions. *Popul. Health Metr.* 2023;21(1):17.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12963-023-00318-6>
132. Zhang H., Yin L., Mao L., et al. Combinational recommendation of vaccinations, mask-wearing, and home-quarantine to control influenza in megacities: an agent-based modeling study with large-scale trajectory data. *Front. Public Health.* 2022;10:883624.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.883624>

133. Li Q., Huang Y. Optimizing global COVID-19 vaccine allocation: An agent-based computational model of 148 countries. *PLoS Comput. Biol.* 2022;18(9):e1010463. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1010463>
134. Kirpich A., Koniukhovskii V., Shvartc V., et al. Development of an interactive, agent-based local stochastic model of COVID-19 transmission and evaluation of mitigation strategies illustrated for the state of Massachusetts, USA. *PLoS One.* 2021;16(2):e0247182. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247182>
135. Singh D.E., Olmedo Luceron C., Limia Sanchez A., et al. Evaluation of vaccination strategies for the metropolitan area of Madrid via agent-based simulation. *BMJ Open.* 2022;12(12):e065937. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2022-065937>
136. Alzu'bi A.A., Alasal S.I.A., Watzlaf V.J.M. A Simulation study of coronavirus as an epidemic disease using agent-based modeling. *Perspect. Health Inf. Manag.* 2020;18(Winter):1g.
137. De-Leon H., Aran D. MAM: Flexible Monte-Carlo Agent based model for modelling COVID-19 spread. *J. Biomed. Inform.* 2023;141:104364. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2023.104364>
138. Thompson J., Wattam S. Estimating the impact of interventions against COVID-19: From lockdown to vaccination. *PLoS One.* 2021;16(12):e0261330. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261330>
139. Gomez J., Prieto J., Leon E., Rodríguez A. INFEKTA-An agent-based model for transmission of infectious diseases: The COVID-19 case in Bogotá, Colombia. *PLoS One.* 2021;16(2):e0245787. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245787>
140. Schröder M., Bossert A., Kersting M., et al. COVID-19 in South Africa: outbreak despite interventions. *Sci. Rep.* 2021;11(1):4956. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84487-0>
141. Hunter E., Namee B.M., Kelleher J.D. A Model for the spread of infectious diseases in a region. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(9):3119. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17093119>
142. Zachreson C., Chang S.L., Cliff O.M., Prokopenko M. How will mass-vaccination change COVID-19 lockdown requirements in Australia? *Lancet Reg. Health West Pac.* 2021;14:100224. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2021.100224>
143. Guzmán-Merino M., Durán C., Marinescu M.C., et al. Assessing population-sampling strategies for reducing the COVID-19 incidence. *Comput. Biol. Med.* 2021;139:104938. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2021.104938>
144. Gaudou B., Huynh N.Q., Philippon D., et al. COMOKIT: A modeling kit to understand, analyze, and compare the impacts of mitigation policies against the COVID-19 epidemic at the scale of a city. *Front. Public Health.* 2020;8:563247. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.563247>
145. Chang S.L., Harding N., Zachreson C., et al. Modelling transmission and control of the COVID-19 pandemic in Australia. *Nat. Commun.* 2020;11(1):5710. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19393-6>
146. Harding N., Spinney R., Prokopenko M. Phase transitions in spatial connectivity during influenza pandemics. *Entropy (Basel).* 2020;22(2):133. DOI: <https://doi.org/10.3390/e22020133>
147. Parisi A., Brand S.P.C., Hilton J., et al. Spatially resolved simulations of the spread of COVID-19 in three European countries. *PLoS Comput. Biol.* 2021;17(7):e1009090. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009090>
148. Germann T.C., Smith M.Z., Dauelsberg L.R., et al. Assessing K-12 school reopenings under different COVID-19 spread scenarios — United States, school year 2020/21: a retrospective modeling study. *Epidemics.* 2022;41:100632. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2022.100632>
149. Mokhtari A., Mineo C., Kriseman J., et al. A multi-method approach to modeling COVID-19 disease dynamics in the United States. *Sci Rep.* 2021;11(1):12426. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92000-w>
150. Gabler J., Raabe T., Röhr K., Gaudecker H.V. The effectiveness of testing, vaccinations and contact restrictions for containing the CoViD-19 pandemic. *Sci. Rep.* 2022;12(1):8048. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12015-9>
151. Milne G.J., Carrivick J., Whyatt D. Mitigating the SARS-CoV-2 Delta disease burden in Australia by non-pharmaceutical interventions and vaccinating children: a modelling analysis. *BMC Med.* 2022;20(1):80. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02241-3>
152. Szanyi J., Wilson T., Howe S., et al. Epidemiologic and economic modelling of optimal COVID-19 policy: public health and social measures, masks and vaccines in Victoria, Australia. *Lancet Reg. Health West Pac.* 2023;32:100675. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2022.100675>
153. Jackson M.L. Low-impact social distancing interventions to mitigate local epidemics of SARS-CoV-2. *Microbes Infect.* 2020;22(10):611–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2020.09.006>
154. Gankin Y., Nemira A., Koniukhovskii V., et al. Investigating the first stage of the COVID-19 pandemic in Ukraine using epidemiological and genomic data. *Infect. Genet. Evol.* 2021;95:105087. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105087>
155. Zhang N., Jack Chan P.T., Jia W., et al. Analysis of efficacy of intervention strategies for COVID-19 transmission: a case study of Hong Kong. *Environ. Int.* 2021;156:106723. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106723>
156. Nguyen Q.D., Chang S.L., Jamerlan C.M., Prokopenko M. Measuring unequal distribution of pandemic severity across census years, variants of concern and interventions. *Popul. Health Metr.* 2023;21(1):17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12963-023-00318-6>
157. Aleta A., Martín-Corral D., Pastore Y. Piontti A., et al. Modelling the impact of testing, contact tracing and household quarantine on second waves of COVID-19. *Nat. Hum. Behav.* 2020;4(9):964–71. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41562-020-0931-9>
158. Zhao C., Zhang J., Hou X., et al. A high-frequency mobility big-data reveals how COVID-19 spread across professions, locations and age groups. *PLoS Comput. Biol.* 2023;19(4):e1011083. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1011083>
159. Li K.K.F., Jarvis S.A., Minhas F. Elementary effects analysis of factors controlling COVID-19 infections in computational simulation reveals the importance of social distancing and mask usage. *Comput. Biol. Med.* 2021;134:104369. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2021.104369>
160. Lei H., Zhang N., Niu B., et al. Effect of rapid urbanization in mainland China on the seasonal influenza epidemic: spatiotemporal analysis of surveillance data from 2010 to 2017. *JMIR Public Health Surveill.* 2023;9:e41435. DOI: <https://doi.org/10.2196/41435>
161. Chiba A. The effectiveness of mobility control, shortening of restaurants' opening hours, and working from home on control of COVID-19 spread in Japan. *Health Place.* 2021;70:102622. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2021.102622>
162. Wang Y., Sun K., Pan Y., et al. A Retrospective modeling study of the targeted non-pharmaceutical interventions during the Xinfadi outbreak in the early stage of the COVID-19 pandemic — Beijing, China, 2020. *China CDC Wkly.* 2023;5(5):108–12. DOI: <https://doi.org/10.46234/ccdcw2023.020>
163. Latkowski R., Dunin-Kępicz B. An agent-based COVID-19 simulator: extending Covasim to the polish context. *Procedia Comput. Sci.* 2021;192:3607–16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procs.2021.09.134>

164. Koo J.R., Cook A.R., Park M., et al. Interventions to mitigate early spread of SARS-CoV-2 in Singapore: a modelling study. *Lancet Infect. Dis.* 2020;20(6):678–88.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30162-6](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30162-6)

Информация об авторах

Маслова Ирина Ильинична — студент НИИ системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0000-0849-9123>

Манолов Александр Иванович[✉] — к.б.н., н.с. НИИ системной биологии и медицины, Москва, Россия, paraslonic@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3912-429X>

Глуценко Оксана Евгеньевна — м.н.с. НИИ системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2028-3066>

Козлов Иван Евгеньевич — лаборант-исследователь НИИ системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0007-2437-5527>

Цуркис Вера Ильинична — студент НИИ системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0001-5140-0990>

Попов Николай Сергеевич — студент НИИ системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0002-6450-8594>

Самойлов Андрей Евгеньевич — н.с. НИИ системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8284-3164>

Лукашев Александр Николаевич — д.б.н., член-корр. РАН, г.н.с. НИИ системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7365-0352>

Ильина Елена Николаевна — д.б.н., член-корр. РАН, г.н.с., зав. лаб. математической биологии и биоинформатики НИИ системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0130-5079>

Участие авторов: *Маслова И.И.* — отбор и анализ научных публикаций, составление текста рукописи, создание визуальной части; *Манолов А.И.* — отбор и анализ научных публикаций, составление текста рукописи, проверка результатов исследования, написание замечаний и редактирование; *Глуценко О.Е.* — создание визуальной части; *Козлов И.Е., Цуркис В.И., Попов Н.С., Самойлов А.Е.* — анализ научных публикаций с точки зрения используемого программного обеспечения; *Лукашев А.Н.* — критический пересмотр рукописи, развитие ключевых целей и задач, написание замечаний и редактирование; *Ильина Е.Н.* — формирование идеи, формулирование и развитие ключевых целей и задач, критический пересмотр рукописи, написание замечаний и редактирование.

Статья поступила в редакцию 23.04.2024;
принята к публикации 10.07.2024;
опубликована 29.08.2024

165. Ripplinger C., Bicher M., Urach C., et al. Evaluation of undetected cases during the COVID-19 epidemic in Austria. *BMC Infect. Dis.* 2021;21(1):70.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05737-6>

Information about the authors

Irina I. Maslova — student, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0000-0849-9123>

Aleksandr I. Manolov[✉] — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, paraslonic@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3912-429X>

Oksana E. Glushchenko — junior researcher, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2028-3066>

Ivan E. Kozlov — research assistant, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0007-2437-5527>

Vera I. Tsurkis — student, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0001-5140-0990>

Nikolay S. Popov — student, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0002-6450-8594>

Andrey E. Samoilov — researcher, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8284-3164>

Alexandr N. Lukashev — D. Sci. (Biol.), Corresponding member of RAS, chief scientist, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7365-0352>

Elena N. Iliina — D. Sci. (Biol.), Corresponding member of RAS, chief scientist, Head, Laboratory for mathematical biology and bioinformatics, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0130-5079>

Author contribution: *Irina I. Maslova* — selection and analysis of scientific publications, drafting of the manuscript text, creation of visuals; *Aleksandr I. Manolov* — Selecting and analyzing scientific publications, drafting the manuscript, reviewing research results, writing comments and editing; *Oksana E. Glushchenko* — visual design; *Ivan E. Kozlov, Vera I. Tsurkis, Nikolay S. Popov, Andrey E. Samoilov* — analyzing scientific publications in terms of the software used; *Alexander N. Lukashev* — critical revision of the manuscript, development of key goals and objectives, writing comments and editing; *Elena N. Iliina* — idea generation, formulation and development of key goals and objectives, critical revision of the manuscript, writing comments and editing.

The article was submitted 23.04.2024;
accepted for publication 10.07.2024;
published 29.08.2024

Научный обзор
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-553>



Роль Т-клеточного иммунитета важно учитывать при создании современных вакцин против клещевого энцефалита

Тигеева Е.В.[✉], Низоленко Л.Ф., Карпенко Л.И.

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Россия

Аннотация

Вирус клещевого энцефалита (КЭ) обладает высокой патогенностью, способен поражать центральную нервную систему, приводя к тяжелейшим хроническим последствиям либо летальному исходу. Единственной эффективной мерой борьбы с КЭ является профилактическая вакцинация. Используемые в настоящее время вакцины, полученные на основе инактивированного вируса КЭ, обеспечивают формирование протективного иммунного ответа, однако такие вакцины требуют многократного введения. Возможной причиной недолгосрочного иммунитета является формирование недостаточно напряжённого Т-клеточного ответа при использовании таких вакцин.

Цель обзора — анализ литературы, содержащей информацию о роли Т-клеточного иммунного ответа в защите организма от КЭ, о его значении для разработки вакцин, а также рассмотрение подходов к разработке новых вакцин против КЭ на основе различных платформ.

При подготовке обзора был проведён анализ литературы, представленной в базах PubMed, Scopus, Elsevier, Google Scholar по состоянию на апрель 2024 г. Для поиска использовали следующие ключевые слова: vaccine, tick-borne encephalitis virus, T-cell immune response, flaviviruses, вакцины, вирус клещевого энцефалита, Т-клеточный иммунный ответ, флавивирусы.

В ряде публикаций продемонстрировано, что структура Т-клеточного ответа при естественном заражении вирусом КЭ и после вакцинации инактивированным вирусом различна. В ходе вирусной инфекции активируются CD4⁺-Т-клетки как Th1-, так и Th2-типа, а также CD8⁺-Т-клетки, играющие важную роль в элиминации вирусной инфекции. После вакцинации преобладает ответ CD4⁺-Т-клеток по Th2-типу, что может являться причиной недолговечного иммунного ответа.

На сегодняшний день исследуется ряд различных типов экспериментальных вакцин против КЭ, таких как вакцины на основе живых аттенуированных вирусов, вакцины на основе вирусных векторов, вирусоподобные частицы, субъединичные вакцины, ДНК- и мРНК-вакцины, полиэпитопные иммуногены. В плане активации Т-клеточного ответа наиболее перспективными выглядят вакцины на основе Т-клеточных полиэпитопных иммуногенов, доставляемых в форме ДНК или мРНК.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, Т-клеточный ответ, вакцины против клещевого энцефалита

Благодарность. Авторы выражают благодарность В.А. Яковлеву за помощь в оформлении иллюстративного материала и техническом редактировании рукописи.

Источник финансирования. Исследование было выполнено в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Тигеева Е.В., Низоленко Л.Ф., Карпенко Л.И. Роль Т-клеточного иммунитета важно учитывать при создании современных вакцин против клещевого энцефалита. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):546–559.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-553>

EDN: <https://www.elibrary.ru/icslhy>

Review
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-553>

The importance of the role of T-cell immunity in the development of modern tick-borne encephalitis vaccines

Elena V. Tigeeva[✉], Lily F. Nizolenko, Larisa I. Karpenko

State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Russia

Abstract

The tick-borne encephalitis (TBE) virus is highly pathogenic and can affect the central nervous system, leading to severe chronic effects or death. The only effective measure to combat TBE is vaccine prophylaxis. Vaccines that are currently used for mass immunization are based on inactivated TBE virus, they provide a protective immune response, but such vaccines require multiple administrations. A possible reason for short-term immunity is an incomplete functional T-cell response to these types of vaccines.

The **aim** of this review is to analyze the literature on the role of the T-cell immune response in protecting the body from tick-borne encephalitis, its importance for vaccine development, and to consider approaches to the development of new TBE vaccines based on different platforms.

When preparing the review, we analyzed the literature presented in scientific databases — PubMed, Scopus, Elsevier, Google Scholar as of April 2024. The following keywords were used for the search: vaccine, tick-borne encephalitis virus, T-cell immune response, flaviviruses.

A several publications have demonstrated that T-cell responses following natural infection with TBE virus and after vaccination with inactivated virus are different. During viral infection, both Th1- and Th2-type CD4⁺ T cells and CD8⁺ T cells are activated and play an important role in the elimination of viral infection. After vaccination, the only Th2-type CD4⁺ T-cell response predominates, which may be the reason for the short-lived immune response. To date, a number of different types of experimental TBE vaccines are being studied, such as live-attenuated vaccines, viral vector vaccines, subunit vaccines, virus-like particles, DNA and mRNA vaccines, and polypeptide immunogens. In our opinion, the most promising in terms of T-cell response activation are vaccines based on T-cell polypeptide immunogens delivered in the form of DNA or mRNA.

Keywords: TBE vaccines, tick-borne encephalitis virus, T-cell immune response

Acknowledgments. The authors express their gratitude to V.A. Yakovlev for assistance in preparing illustrative material and technical editing of the manuscript.

Funding source. The study was carried out within the framework of the state assignment of the State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector".

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Tigeeva E.V., Nizolenko L.F., Karpenko L.I. The importance of the role of T-cell immunity in the development of modern tick-borne encephalitis vaccines. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2024;101(4):546–559.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-553>

EDN: <https://www.elibrary.ru/icslhy>

Широкое распространение вируса КЭ вызывает серьёзные опасения у органов здравоохранения многих стран. Это связано с тем, что вирус, обладая высокой патогенностью, способен поражать центральную нервную систему (ЦНС), приводя к тяжелейшим хроническим последствиям либо летальному исходу [1–3].

В 30% случаев у людей, перенёсших КЭ, развиваются неврологические осложнения. Смертность от инфекции варьирует в зависимости от штамма вируса. Наиболее высокий процент летальных случаев (до 35%) регистрируют при заражении штаммами, принадлежащими к дальневосточному субтипу [4–6].

Наиболее эффективным способом борьбы с вирусом является вакцинопрофилактика. Все лицензированные на сегодняшний день вакцины созданы на основе штаммов инактивированного вируса КЭ. Принято считать, что средний уровень сероконверсии как для российских, так и для европейских вакцин колеблется в интервале 86–100%, что обеспечивает формирование защитного иммунитета у вакцинированных [2, 7]. В то же время вакцины на основе инактивированного вируса КЭ имеют ряд недостатков: сложный график вак-

цинации, относительно высокая реактогенность, сложность производства и хранения; кроме того, встречаются случаи прорывных инфекций у вакцинированных [2, 8, 9]. Среди привитых заболеваемость КЭ колеблется, в зависимости от эндемичного региона, от 3,7% [10] до 23,8% [11] от общего числа заболевших. Одной из возможных причин прорывных инфекций является отсутствие вакцин, учитывающих генетическую вариабельность вируса КЭ. Другая причина связана с недостаточной напряжённым и непродолжительным специфическим иммунитетом у ряда вакцинированных, особенно у пожилых людей [7–9, 12].

Т-клеточное звено иммунного ответа является важной частью защитного иммунитета против вирусных инфекций, таких как КЭ. Появляется всё больше публикаций, посвящённых роли Т-клеточного иммунного ответа в защите от инфекции, вызванной вирусом КЭ. Поэтому всё больше исследователей стали обращать внимание на этот аспект адаптивного иммунного ответа, особенно в контексте исследований, посвящённых разработке новых вакцинных препаратов [7, 13]. Широкое распространение вируса и активный рост числа заболевших стимулировали интерес к разработке новых

вакцин против КЭ, учитывающих роль Т-клеточного иммунного ответа.

Целью обзора является анализ литературы, содержащей информацию о роли Т-клеточного иммунного ответа в защите организма от КЭ, о его значении для разработки вакцин, а также рассмотрение подходов к разработке новых вакцин против КЭ на основе различных платформ.

В данном обзоре мы рассматриваем основные аспекты формирования Т-клеточного ответа у людей при заражении вирусом КЭ и после вакцинации лицензированными вакцинами, а также основные направления работ по поиску безопасных и высокоэффективных вакцин нового поколения, способных преодолеть ограничения существующих.

Материалы и методы

При подготовке обзора был проведён анализ литературы, представленной в научных базах PubMed, Scopus, Elsevier, Google Scholar, по состоянию на апрель 2024 г. Для поиска использовали следующие ключевые слова: vaccine, tick-borne encephalitis virus, T-cell immune response, flaviviruses, вакцины, вирус клещевого энцефалита, Т-клеточный иммунный ответ, флавивирусы.

На первом этапе в научной электронной базе PubMed при поиске с использованием различных сочетаний ключевых слов было найдено 1754 источника. Ограничение поиска по времени написания публикаций с 2019 по 2024 г. позволило сузить их количество до 424 источников. Поиск без учёта года издания в данной научной библиотеке обнаружил еще 123 источника, соответствующих тематике. Подобным образом поиск был проведён с помощью научных баз Scopus, Elsevier, Google Scholar.

В ходе поиска литературы в перечисленных базах данных на русском и английском языках, проводившемся с учётом таких критериев отбора, как год издания и доступность публикаций к прочтению, было проанализировано около 2000 источников, соответствующих тематике. В связи с ограничением по объёму статьи были отобраны 88 источников.

Адаптивный иммунный ответ при заражении вирусом КЭ и после вакцинации

Адаптивный иммунный ответ составляют специфические для вируса КЭ гуморальный (опосредованный антителами) и клеточный иммунные ответы. На **рисунке** схематически представлены иммунные реакции адаптивного иммунного ответа, возникающие после вакцинации либо при заражении вирусом КЭ.

Эффективность антител к вирусу КЭ продемонстрирована защитой восприимчивых лиц, подвергшихся воздействию вируса, путём введения им анти-ВКЭ-иммуноглобулина. Считается, что гуморальный иммунитет играет решающую роль в

защите от вируса КЭ, обеспечивая синтез антител, специфически нацеленных на вирус. Эти антитела нейтрализуют вирус и предотвращают его распространение, помогая ограничить тяжесть инфекции и обеспечивая долгосрочный иммунитет против заражения вирусом КЭ (рисунок, А). Антитела способны связываться с вирусными частицами, вызывая их поглощение и разрушение фагоцитирующими иммунными клетками [7, 13].

У человека, который перенёс КЭ, формируются В-клетки памяти и вируснейтрализующие антитела, которые обеспечивают длительную защиту от повторного заражения вирусом. Долгосрочное поддержание В-клеток памяти позволяет иммунной системе быстрее и эффективнее реагировать на повторное заражение. При очередной встрече с тем же вирусом эти клетки быстро дифференцируются в плазматические клетки, продуцирующие антитела, которые уничтожают вирус до того, как он сможет вызвать широко распространённую инфекцию и заболевание [13–16].

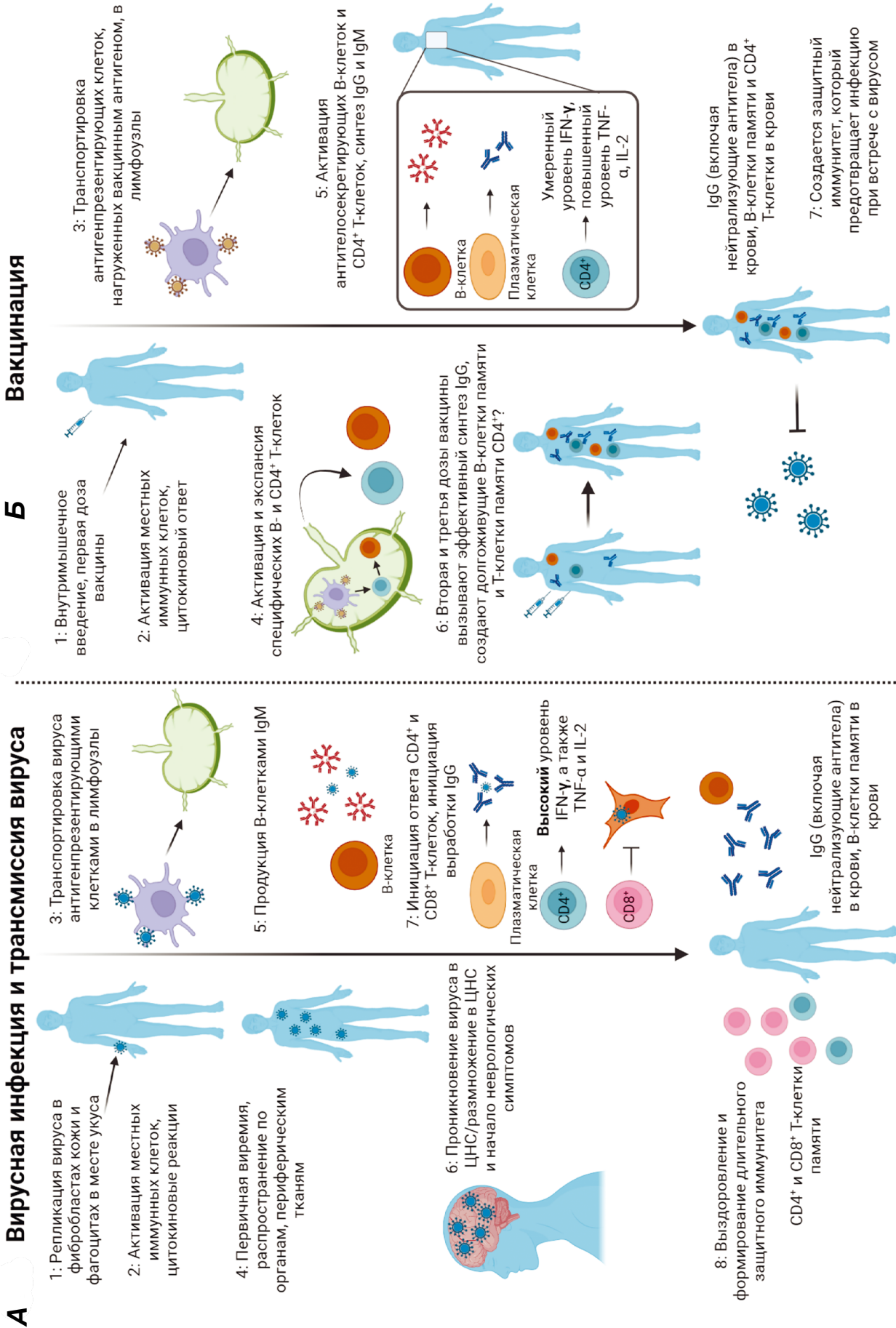
При вакцинации инактивированным вирусом функциональность популяций В-клеток памяти сохраняется относительно недолго, что связано с ограниченностью ответов со стороны CD4⁺-Т-клеток (рисунок, Б) [17].

Иммунный ответ, связанный с CD4⁺-Т-клетками

CD4⁺-Т-лимфоциты имеют важное значение в формировании как гуморального, так и клеточного звена иммунитета. CD4⁺-Т-клетки продуцируют цитокины, которые помогают стимулировать противовирусный иммунный ответ и оказывать В-клеткам помощь, необходимую для стимуляции синтеза антител (рисунок, А). Вирус КЭ кодирует 7 неструктурных белков (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b и NS5) и только 3 структурных белка: белок С (капсид) и мембраноассоциированные белки ргМ/М (предшественник мембраны/мембраны) и Е (оболочка) [18–20]. Структурные белки, по-видимому, содержат основные эпитопы, активирующие ответ CD4⁺-Т-клеток во время инфекции [8, 21], хотя в литературе встречаются данные о том, что несколько Т-хелперных эпитопов содержится в неструктурном белке вируса КЭ — NS1 [22].

При анализе пептидных фрагментов, объединяющих предсказанные иммунодоминантные эпитопы из белка С, было показано, что в активации CD4⁺-клеток участвуют главным образом два кластера пептидов как при естественном заболевании, так и после вакцинации. Они располагаются в α2- и α4-спиралях белка С [21]. Менее эффективными в отношении активации CD4⁺ оказались пулы эпитопов, предсказанные для белка Е, однако эту разницу нельзя считать значительной. Обнаружено, что у пациентов, перенёсших естественную инфекцию, специфическую стимуляцию CD4⁺-клеток обеспе-

ОБЗОРЫ



Иммунные реакции, возникающие после заражения вирусом КЭ (А) и после вакцинации против КЭ (Б) (по R. Ackermann-Gäumann и соавт. [13]).
Immune reactions occurring after infection with the TBE virus and after vaccination against TBE (adapted from R. Ackermann-Gäumann et al. [13]).

чивают эпитопы, расположенные в третьем домене, а также «стержневой» области Е-белка. В группе вакцинированных пациентов стимуляцию обеспечивали пептидные кластеры из первого, второго и третьего доменов Е-белка [21].

Специфичные для вируса КЭ CD4⁺-Т-клетки, образующиеся в результате вакцинации, по-видимому, реагируют на более узкий диапазон вирусных мишеней по сравнению с теми, которые образуются в результате инфекции [8, 21], при этом уровни интерферона- γ (ИФН- γ), вызванные вакцинацией, достигают лишь около половины от уровня ответа, вызванного инфекцией.

Примечательно, что после естественного заражения вирусом КЭ наивные CD4⁺-клетки дифференцируются преимущественно по пути Th1, а при вакцинации инактивированным вирусом — в большей степени по пути Th2 [8, 9]. При этом на фоне естественной инфекции CD4⁺-Т-клетки приобретают полифункциональность, продуцируя различные цитокины, такие как интерлейкин-2 (ИЛ-2), ИФН- γ и фактор некроза опухоли- α (ФНО- α ; рисунок, А) [4]. Существует корреляция между функциональностью CD4⁺-Т-клеток и уровнем вируснейтрализующих антител, что указывает на то, что они способны контролировать индукцию нейтрализующих антител [8].

После вакцинации количество CD4⁺-Т-клеток также положительно коррелирует с ответом антител против вируса КЭ [17], а у лиц, ответивших на вакцину, наблюдается повышенная пролиферация антигенспецифических Т-клеток по сравнению с лицами, не ответившими на вакцину (рисунок, А) [23]. Реакция на вакцинацию, как правило, смещена в сторону продукции ИЛ-2 и ФНО- α по сравнению с инфекцией (рисунок, Б) [9].

Иммунный ответ, связанный с CD8⁺-Т-клетками

CD8⁺-Т-лимфоциты играют важную роль в вирусной инфекции, идентифицируя и уничтожая инфицированные клетки, тем самым ограничивая распространение вируса в организме. На данный момент, в отличие от CD4⁺-Т-клеток, специфические для CD8⁺-Т-лимфоцитов эпитопы были обнаружены только в неструктурных белках вируса КЭ, таких как NS2A, NS3, NS4B и NS5 [24].

CD8⁺-Т-клетки при естественном заражении активируются несколько позже, чем CD4⁺-Т-клетки, однако, несмотря на это, имеют значительно более высокий уровень активации, продуцируя повышенные уровни гранзима В и перфорина [4, 7].

К. Blom и соавт. показали, что у пациентов с КЭ на пике Т-клеточного ответа через 1 нед после госпитализации активация CD8⁺-Т-клеток была существенно увеличена по сравнению с CD4⁺-Т-клетками [25], что указывает на тенденцию к доминированию CD8⁺ (рисунок, А). Эти CD8⁺-Т-клетки

дополнительно демонстрировали эффекторный фенотип (CD45RA-CCR7) [24, 25] и имели высокоактивированный транскрипционный профиль Eomes⁺Ki67⁺T-bet⁺. Однако эти эффекторы, как правило, были монофункциональными. После острой инфекции, когда пациенты выздоравливали, антигенспецифические CD8⁺-Т-клетки перешли к фенотипу Eomes-Ki67-T-bet⁺ [25], что соответствует популяции эффекторной памяти 1-го типа.

Как правило, анализ CD8⁺-Т-клеток проводят у пациентов с тяжёлым течением заболевания, у которых CD8⁺-Т-клетки обнаруживают не только в крови, но иногда и в тканях мозга [13]. Этот факт ограничивает понимание того, является ли популяция CD8⁺ важным фактором защиты при лёгком или бессимптомном заболевании, либо дополнительным фактором, вызывающим патологию [13]. В пользу необходимости CD8⁺-Т-клеток для защиты организма от вируса КЭ свидетельствуют недавно полученные данные о том, что тяжесть заболевания, а также его форма зависят от степени активации Т-клеток. Ранняя активация ответов Т-клеточного ответа, в том числе подмножества CD8⁺-Т-лимфоцитов, значительным образом коррелировала с благоприятным исходом заболевания [26].

Результаты исследований на животных также неоднозначны. В работе D. Růžek и соавт. показано, что у мышей с тяжёлым иммунодефицитом и у мышей с нокаутом CD8 выживаемость после летальной инфекции, вызванной вирусом КЭ, выше по сравнению с мышами дикого типа или мышами с адоптивно перенесёнными CD8⁺-Т-клетками [27]. Это может свидетельствовать о возможной роли CD8⁺-Т-клеток в развитии летальной инфекции. Впоследствии D. Růžek и соавт. получили данные, указывающие на то, что CD8⁺-Т-клетки не несут ответственности за проницаемость гематоэнцефалического барьера во время заболевания, поскольку его разрушение во время инфекции, вызванной данным вирусом, наблюдалось как у животных дикого типа, так и у животных с нокаутом по CD8 [28].

Роль CD8⁺-Т-клеток в клиренсе вируса из нервных тканей показана для других флавивирусных инфекций с использованием мышей в качестве лабораторных животных [29]. Истощение CD8⁺-Т-клеток приводило к усилению инфекции, вызванной вирусами Зика и денге, но этот эффект исчезал после адоптивного переноса CD8⁺-Т-клеток памяти. Аналогичные результаты были получены при использовании мышей с дефицитом различных цитотоксических эффекторных молекул при лихорадке Западного Нила. На начальных этапах инфекций, вызываемых вирусами жёлтой лихорадки и Зика, когда у мышей ещё не сформировался достаточный уровень вирусспецифических антител, эффекторные CD8⁺-Т-клетки необходимы для контроля инфекции [29].

Данных об обнаружении специфических CD8⁺-Т-клеток у людей, получивших вакцину против КЭ, не много (рисунок, Б). А. Sycheva и соавт. исследовали формирование Т-клеточного ответа у добровольцев, вакцинированных «Клещ-Э-Вак», и показали, что в периферической крови вакцинированных обнаруживается низкий уровень CD8⁺, специфичных к вирусу КЭ, а общий ответ на вакцину явно зависит от CD4⁺ [30, 31].

Как уже упоминалось выше, основные эпитопы CD8⁺-Т-клеток содержатся в неструктурных белках вируса [24]. Поскольку неструктурные белки синтезируются только во время активной репликации вируса, в используемых в настоящее время вакцинах, основанных на инактивированном вирусе, такие белки обнаруживаются в небольших количествах или полностью отсутствуют [32]. Этот факт может частично объяснить низкий ответ CD8⁺-Т-клеток в ходе вакцинации. При этом инфекция КЭ может вызывать пожизненный защитный ответ CD8⁺ [14].

Ниже будет рассмотрен ряд вакцинных платформ с точки зрения возможности индуцирования Т-клеточного иммунного ответа.

Вакцины против клещевого энцефалита

Вакцины на основе инактивированного вируса

В настоящее время существует ряд одобренных и лицензированных для взрослых и детей вакцин против КЭ, полученных на основе инактивированных штаммов вируса [33]. В Европе доступны 2 вакцины, разработанные с использованием европейских штаммов вируса КЭ: K23 и Neudorfl. В России лицензированы вакцины «Клещ-Э-Вак», его лиофилизированный аналог «КЭ Москва» (ФНЦ ИБП РАН им. Чумакова) и «ЭнцеВир» («Микроген»), которые основаны на дальневосточных штаммах вируса КЭ Софьин и 205 соответственно [12, 34–36]. Вакцина, применяемая в Китае, содержит штамм Sen-Zhang (дальневосточный подтип вируса КЭ) [37]. Вакцинация против КЭ доказала свою эффективность, о чём свидетельствуют результаты кампаний массовой вакцинации в Австрии [38] и России [39–42].

Все лицензированные вакцины способны обеспечить достаточно эффективную профилактику КЭ, особенно при реализации масштабных программ вакцинации населения. Однако существующие вакцины не лишены недостатков, к которым относится сложная схема вакцинации, обусловленная невозможностью поддерживать должный уровень иммунной защиты в долгосрочной перспективе. Несоблюдение графика вакцинации пациентом может приводить к низкому уровню гуморального иммунного ответа у вакцинированных, особенно у пожилых людей [2, 7].

Вакцинация инактивированным вирусом индуцирует заведомо более низкие титры антител, чем естественная инфекция [7]. Считается, что это может быть связано с изменением конформации Е-белка в результате воздействия на вирусную частицу формальдегида в процессе инактивации. Таким образом, доступность эпитопов, связываемых с нейтрализующими антителами, снижается [43]. Как уже отмечалось, существует разница в иммунном ответе на инфекцию и вакцинацию инактивированным вирусом, которая связана с ограниченностью ответов Т-клеточного звена — малым числом специфических CD8⁺-Т-лимфоцитов, а также сниженной функциональностью CD4⁺-клеток (рисунок, Б). В ответ на инактивированный вирус формируются моно- или бифункциональные CD4⁺-Т-клетки, способные продуцировать, например, только ИЛ-2 или только ИЛ-2 и ФНО- α , но уровень секреции ИФН- γ значительно снижен по сравнению с естественной инфекцией [4, 8]. Вакцинация приводит к смещению ответа в сторону Th2-пути, в то время как при естественном заболевании клеточный ответ формируется, как правило, по Th1-пути, что может сказываться на эффективности защиты от вируса [7, 44]. В идеале вакцины должны вызывать более устойчивые реакции CD4⁺-Т-клеток, продуцирующие ИФН- γ .

К недостаткам вакцин, полученных на основе инактивированных вирусов, можно отнести также тот факт, что для их производства используется только конкретный штамм вируса КЭ и не учитывается его генетическая вариабельность. В результате этого в эндемичных регионах число «прорывных» инфекций среди вакцинированных лиц может достигать 23,8% от общего числа заболевших [11]. Тем не менее данное направление пока остаётся главенствующим при создании вакцин. В 2017 г. I/II фазу клинических испытаний завершила вакцина «Evervac» [45]. Главным отличием этой вакцины от аналогов является отсутствие в составе адьювантов, а также наработка вируса на клетках Vero, что позволяет добиться улучшенного профиля безопасности. Однако проблема, связанная с неполнотой Т-клеточного ответа, так и не была решена [45].

Подходы к разработке вакцин против КЭ и индукция клеточного иммунитета

На данный момент исследования кандидатных вакцин против КЭ и других флавивирусов сосредоточены на достижении сразу нескольких задач:

- достичь высокой иммуногенности во всех возрастных группах и группах риска;
- обеспечить быстрый и высокий уровень сероконверсии;
- обеспечить формирование долговременного иммунного ответа, избегая сложных схем иммунизации;

- снизить побочные эффекты;
- обеспечить перекрёстный защитный иммунитет против нескольких подтипов вируса КЭ и индукцию эффективного CD4⁺- и CD8⁺-клеточного ответа [7].

Помимо широко используемого подхода к созданию вакцин против КЭ на основе инактивированного вируса, на данный момент разрабатывается целый ряд профилактических препаратов, базирующихся на других вакцинных платформах [7].

Живые аттенуированные вакцины

Живые аттенуированные вирусы, утратившие на генетическом уровне патогенные свойства, но содержащие те же антигены, что и исходный патоген, и сохранившие способность вызывать в организме естественную инфекцию в ослабленной форме, способствуют формированию выраженного и длительного В- и Т-клеточного иммунитета, по напряжённости приближающегося к постинфекционному [46]. Первые попытки аттенуации вируса КЭ не были успешными, поэтому в качестве более перспективного источника штаммов для живых аттенуированных вакцин против КЭ стали рассматривать открытый в 1956 г. вирус Лангат TP-21 [7, 19]. Однако крупное исследование с участием 650 тыс. добровольцев показало, что, помимо индукции высокого уровня иммунной защиты, среди вакцинируемых ослабленным вирусом Лангат часто наблюдалось развитие серьёзных неврологических последствий, в том числе энцефалита [7]. Последующие исследования по разработке вакцин против КЭ на основе аттенуированных вирусов продолжились в направлении улучшения их профиля безопасности. В качестве основных мишеней для ослабления фенотипа выбирались такие белки, как С, Е и NS5, что в конечном итоге позволило получить несколько кандидатных вакцин, обладающих низкой реактогенностью и обеспечивающих высокий уровень продукции антител и Т-клеточного ответа [47–49].

Активно ведутся работы по получению химерных вирусов, сочетающих в себе фрагменты геномов вируса КЭ, чаще всего — гены белков Е и rгМ, а также вирусов лихорадки Западного Нила, денге и Лангат [7, 50].

Хотя вакцины на основе живых аттенуированных вирусов вызывают серьёзные опасения по поводу их безопасности, тем не менее в мире лицензировано уже несколько вакцин против инфекций, вызываемых другими представителями флавивирусов: против жёлтой лихорадки (YFV-17D), японского энцефалита (ИМОЖЕВ) и лихорадки денге (Dengvaxia). Две четырёхвалентные живые аттенуированные вакцины против лихорадки денге, производимые «Takeda Pharmaceutical» и «НИН/Butantan», успешно прошли III фазу клинических испытаний [50].

Субъединичные вакцины

По сравнению с живыми аттенуированными вакцинами производство и применение субъединичных вакцин отличается безопасностью, благодаря возможности включения в вакцину отдельных антигенных составляющих в виде вирусных белков или их фрагментов. Однако субъединичные вакцины вызывают в основном только гуморальный иммунный ответ и ограниченный спектр реакций со стороны Т-клеточного звена иммунитета. Они не способны индуцировать длительный иммунный ответ, вследствие чего требуются включения адъювантов в их состав и бустерные иммунизации.

Множество потенциальных вакцин, разрабатываемых против КЭ и инфекций, вызываемых другими флавивирусами, создавались на основе структурного белка Е или его субъединиц, содержащих эпитопы, узнаваемые нейтрализующими антителами [7]. Было показано, что иммунизация мышей рекомбинантным EDIII-доменом белка Е в сочетании с различными адъювантами позволяет добиться не только индукции нейтрализующих антител, но и частичной защиты от заражения вирусом [51]. В клинических испытаниях показывают значительные успехи субъединичные вакцины против лихорадки денге (V180) и Западного Нила (WN-80E), в состав которых входят усечённые формы белка Е с адъювантами [50].

Вирусоподобные частицы

Вирусоподобные частицы (ВПЧ) формируются в результате одновременного синтеза структурных белков, чаще всего rгМ/Е, в различных системах экспрессии. Структура ВПЧ приближена к нативной структуре вириона КЭ, что позволяет обеспечить представление максимального числа Т- и В-клеточных эпитопов иммунокомпетентным клеткам. Такие вакцины характеризуются отсутствием потенциальных патогенных свойств и высоким уровнем безопасности [50]. Введение ВПЧ сопровождается индукцией высокого титра вируснейтрализующих антител, активацией CD4⁺-Т-клеток, а также формированием Т-клеток центральной и эффекторной памяти [7]. В одной из работ по исследованию иммуногенных свойств ВПЧ на модели мышей было показано, что иммунизация ВПЧ способствует дифференцировке CD4⁺-Т-клеток по Th2-пути с преобладанием фенотипа ИЛ-4⁺ [52]. В аналогичном исследовании был косвенно подтверждён этот результат. После введения ВПЧ мышам наблюдали формирование напряжённого гуморального иммунного ответа; вместе с тем анализ CD4⁺-Т-клеток на ИФН- γ , ИЛ-2 и ФНО- α показал отсутствие существенной разницы между экспериментальной и контрольной группами [53].

Вакцины на основе вирусных векторов

При разработке вакцин против КЭ и заболеваний, вызываемых родственными ему вирусами, применяется также подход, зарекомендовавший свою эффективность при борьбе с другими инфекциями, — вакцины на основе вирусных векторов. Такие вакцины представляют собой рекомбинантные или модифицированные вирусы, кодирующие определённые антигены и характеризующиеся способностью или неспособностью к репликации после введения в организм. Основным преимуществом вакцин на основе вирусных векторов является их высокая иммуногенность, обусловленная внутриклеточной экспрессией антигенов и присутствием самого вирусного вектора, который может играть роль «естественного» адъюванта [50].

Однако, как и в случае с живыми аттенуированными вакцинами, подход на основе вирусных векторов, особенно способных к репликации, вызывает вопросы к безопасности их применения в связи с повышенными рисками высокой виремии и потенциальной возможности приобретения патогенных свойств. При введении вакцин на основе вирусного вектора формируется антивекторный иммунный ответ, что снижает эффективность вакцин при повторной иммунизации. К недостаткам таких вакцин следует отнести также сложность и дороговизну их производства [50].

В работах по созданию экспериментальных вакцин против флавивирусных инфекций применяются векторы на основе таких вирусов, как рекомбинантный вирус гриппа А, рекомбинантный аденовирус, модифицированный вирус осповакцины и др. [7]. Различные сочетания антигенов вируса КЭ, которые закодированы в геном вирусного носителя, позволяют при необходимости модулировать иммунный ответ. Так, в ряде работ было показано, что различные вирусные векторы, кодирующие последовательности NS1, индуцируют синтез вируснейтрализующих антител, а также обеспечивают частичную защиту против вируса КЭ [54]. При этом такие вакцины способны активировать и Т-клеточное звено иммунитета, индуцируя образование CD4⁺- и CD8⁺-Т-лимфоцитов, продуцирующих ИФН- γ , ИЛ-2 и ФНО- α . Модифицированный вирус осповакцины Анкара, кодирующий последовательность белков вируса КЭ rгM и E, при введении мышам также индуцировал высокие уровни вируснейтрализующих антител и специфического Т-клеточного ответа и обеспечивал полную защиту от заражения вирусом [55]. Схожие результаты были получены и в исследовании, посвящённом изучению свойств кандидатной вакцины против лихорадки Зика на основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, кодирующего белки rгM, E и NS1 [56].

Несмотря на эффективность использования вирусных векторов в качестве одной из платформ

для разработки вакцин, на сегодняшний день до стадии клинических испытаний дошла только одна вакцина. MV-ZIKV против лихорадки Зика разработана на платформе штамма Schwarz вируса кори и проходит фазу I клинических испытаний [57].

мРНК- и ДНК-вакцины

В последнее время активно развиваются технологии создания вакцин с использованием нуклеиновых кислот — ДНК- и мРНК-вакцины. Внутриклеточная экспрессия антигенов, кодируемых вакцинами на основе нуклеиновых кислот, позволяет обеспечить нативную структуру белков благодаря посттрансляционным модификациям [58]. Это имеет важное значение для дальнейшего процессинга антигена, его презентации на поверхности иммунных клеток, активации как CD4⁺-, так и CD8⁺-Т-клеток.

Технология производства таких вакцин не требует сложных манипуляций или работы с опасными патогенами, что значительно облегчает процесс их создания и снижает его общую стоимость [58]. Кроме того, считается, что применение таких вакцин является более безопасным по сравнению с традиционными подходами [59].

Однако следует отметить, что вакцины на основе нуклеиновых кислот в «голом» виде имеют низкую иммуногенность, поэтому для повышения эффективности используются различные способы доставки к иммунокомпетентным клеткам, включая химические и физические способы [50].

Опубликован ряд работ по получению экспериментальных вакцин против КЭ на основе нуклеиновых кислот. Получена экспериментальная вакцина на основе самореплицирующейся неинфекционной РНК вируса КЭ, содержащей несколько делеций в области гена С-белка, а также точечных мутаций в области гена *prM*, но не утратившей репликативной функции. Полученная мРНК-вакцина эффективно индуцировала не только гуморальный, но и клеточный ответ, активируя CD8⁺-клетки, а также ответ CD4⁺-Т-клеток Th1-типа [60–62].

ДНК-вакцины обладают преимуществом перед мРНК-вакцинами благодаря большей стабильности и меньшей требовательности к условиям хранения. В работах Y. Omori-Urabe и соавт. [63] и группы исследователей из Венского университета (Австрия) [64] описаны ДНК-конструкции в виде плазмидных и вирусных векторов, кодирующих белки E и rгM. Иммунизация этими конструкциями индуцировала сильный иммунный ответ и высокий уровень вируснейтрализующих антител. Как правило, при введении таких вакцин наблюдали Th1-путь дифференцировки CD4⁺-клеток, сопровождавшийся продукцией ИФН- γ , ФНО- α и ИЛ-2, однако при этом была продемонстрирована некоторая вариабельность сдвига соотношения Th1/Th2 в зависимости от использования тех или иных методов доставки [64].

В настоящее время проходят клинические испытания нескольких экспериментальных мРНК- и ДНК-вакцин против других флавивирусных инфекций (вызываемых вирусами денге, Зика и лихорадки Западного Нила), и ряд вакцин находятся на стадии доклинических исследований [50].

Полиэпитопные вакцины

Данная вакцинная платформа специализируется на конструировании именно Т-клеточных иммуногенов и опирается на две основные стратегии. Первая полиэпитопная стратегия основана на разработке искусственных генов, доставляемых плазмидной ДНК, мРНК либо вирусным вектором, кодирующими цепочки CD4⁺- и CD8⁺-эпитопов различных белков вируса, соединённых линкерами, выстроенных в одну искусственную конструкцию вакцины. Эта стратегия даёт исследователю свободу выбора эпитопов, что обеспечивает более узкую фокусировку ответов на предпочтительных эпитопах [65]. Современные знания о механизмах формирования CD4⁺- и CD8⁺-ответа на продуктивную вирусную инфекцию позволяют разработать алгоритмы для оптимального отбора Т-клеточных эпитопов целевого патогена с учётом особенностей главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) конкретного генотипа. В настоящее время существуют базы данных эпитопов, такие как Immune Epitope Database [66], разработаны программы, позволяющие предсказывать Т-клеточные эпитопы в различных вирусных белках, и программы для рационального дизайна вакцин, например, PolyCTLDesigner [67].

Вторая стратегия заключается в конструировании химерных иммуногенов, созданных из более длинных участков белков, охватывающих наиболее консервативные регионы вирусных белков, в которых концентрируются Т-клеточные эпитопы [65]. Биоинформатические подходы, которые применяются при оптимизации соединений эпитопов для полиэпитопных вакцин, используются также при разработке консервативных химерных полиэпитопных белков.

За последние 3 года опубликовано множество работ, посвящённых конструированию полиэпитопных иммуногенов флавивирусов (Зика [68], денге [69], Повассан [70, 71] и жёлтой лихорадки [72]), а также SARS-CoV-2 [73–77], вируса Эбола [78–80], вируса Марбург [81], гриппа [82–85] и др. Иммуногенность полиэпитопных ВИЧ-1 вакцин оценивалась в ходе клинических испытаний [86, 87].

В работе Д.Н. Кисакова и соавт. описана экспериментальная ДНК-вакцина против КЭ, кодирующая искусственный полиэпитопный иммуноген вируса КЭ [88]. В состав иммуногена вошли предсказанные эпитопы из основных белков вируса КЭ (NS1, NS3, NS5 и E), рестриктируемые самыми

распространёнными человеческими аллморфами молекул HLA I типа и аллельными вариантами молекул МНС I типа, характерными для мышей линии BALB/c. Введение данной вакцины индуцирует формирование защитного вирусспецифического Т-клеточного ответа у мышей и обеспечивает 50% защиту иммунизированных животных от заражения 100 ЛД₅₀ вируса КЭ (штамм 205).

Иммуногены, спроектированные с использованием компьютерных методов предсказания Т-клеточных эпитопов и рационального дизайна полиэпитопных антигенов, могут стать основой новых эффективных способов иммунопрофилактики инфекционных заболеваний. С их использованием могут проектироваться как «универсальные» антигенные конструкции, охватывающие значительную часть целевой человеческой популяции, так и персонализированные конструкции, составленные с учётом генетических особенностей конкретного пациента (с учётом его репертуара аллельных вариантов молекул МНС I и/или II класса).

Оптимальным путем повышения эффективности вакцин против вирусных инфекций может быть интегрированная стратегия, которая сочетает использование двух иммуногенов в системе прайм-буст, один из которых индуцирует вируснейтрализующие антитела (например, классическая инактивированная вакцина), а другой — ответы Т-клеток (полиэпитопный иммуноген).

Заключение

С накоплением данных об особенностях адаптивного иммунного ответа при КЭ приходит понимание роли Т-клеточного ответа в протективном иммунитете при инфекции и вакцинации, а также его влияния на исход заболевания. Структура Т-клеточного ответа при естественном заражении вирусом КЭ и после вакцинации инактивированным вирусом различается. После инфицирования активируются полифункциональные CD4⁺-Т-клетки как Th1-, так и Th2-типа, а также монофункциональные CD8⁺-Т-клетки, играющие важную роль в элиминации вирусной инфекции. Отсутствие в составе инактивированных вакцин неструктурных белков вируса КЭ, несущих основные эпитопы CD8⁺-Т-лимфоцитов, приводит к активации лишь части Т-клеточного иммунного ответа, представленного CD4⁺-Т-клетками Th2-типа, осуществляющими главным образом поддержку для В-клеточного ответа. Таким образом, неполнота Т-клеточного иммунного ответа, возникающего после вакцинации классическими вакцинами, приводит к сниженной функциональности клеток памяти, что может лежать в основе недолгосрочности протективного ответа на вакцину.

Ряд вопросов относительно Т-клеточного ответа остаются не вполне ясными, в том числе нет

единого мнения по поводу роли CD8⁺ в развитии патологического процесса в ходе инфекции. Тем не менее многие исследователи приходят к выводу, что необходимым условием ограничения проникновения вируса КЭ в органы ЦНС и смягчения иммунной патологии является высокий уровень вируснейтрализующих антител в сочетании с Т-клеточным ответом, включающим ответ специфических CD8⁺-Т-клеток.

Внимание к Т-клеточному ответу продолжает расти также в связи с необходимостью улучшения классических инактивированных вакцин против КЭ. Исследования вакцин нового поколения сосредоточены на поиске такой стратегии, которая позволила бы обеспечить сбалансированный гуморальный и Т-клеточный иммунный ответ. На сегодняшний день было исследовано множество типов вакцин, представляющих собой живые аттенуированные вирусы, субъединичные вакцины, вакцины на основе вирусных векторов, вирусоподобные частицы, субъединичные вакцины, ДНК- и мРНК-вакцины, полиэпитопные иммуногены. На наш взгляд, в плане активации Т-клеточного ответа наиболее перспективными выглядят вакцины на основе Т-клеточных полиэпитопных иммуногенов, доставляемых в форме ДНК или мРНК. Оптимальным путём к повышению эффективности вакцины может быть интегрированная стратегия, которая сочетает в себе использование двух иммуногенов в системе prime-boost, один из которых индуцирует вируснейтрализующие антитела, а другой — ответ Т-клеток.

Разработка безопасной, эффективной вакцины против КЭ, обеспечивающей формирование сбалансированного Т- и В-клеточного иммунитета, станет важным достижением в борьбе с КЭ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Хаснатинов М.А. Роль генетического разнообразия вируса клещевого энцефалита и других клещевых патогенов в обеспечении устойчивого существования их эпидемиологически значимых природных очагов в Восточной Сибири и Монголии: Дисс. ... д-ра биол. наук. Иркутск; 2019. Khasnatinov M.A. *The role of the genetic diversity of tick-borne encephalitis virus and other tick-borne pathogens in ensuring the sustainable existence of their epidemiologically significant natural foci in Eastern Siberia and Mongolia*: Diss. Irkutsk; 2019.
2. Колясникова Н.М., Ишмухаметов А.А., Акимкин В.Г. Современное состояние проблемы клещевого энцефалита в России и мире. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2023;22(1):104–23. Kolyasnikova N.M., Ishmukhametov A.A., Akimkin V.G. The current state of the problem of tick-borne encephalitis in Russia and the world. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2023;22(1):104–23. DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2023-22-1-104-123> EDN: <https://elibrary.ru/yeynhd>
3. Колясникова Н.М., Герасимов С.Г., Ишмухаметов А.А., Погодина В.В. Эволюция клещевого энцефалита за 80-летний период: основные проявления, вероятные причины. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020;19(3):78–88. Kolyasnikova N.M., Gerasimov S.G., Ishmukhametov A.A., Pogodina V.V. Evolution of tick-borne encephalitis over an 80-year period: main manifestations, probable causes. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):78–88. DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-78-88> EDN: <https://elibrary.ru/kihkhki>
4. Blom K., Cuapio A., Sandberg J.T., et al. Cell-mediated immune responses and immunopathogenesis of human tick-borne encephalitis virus-infection. *Front. Immunol.* 2018;9:2174. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02174>
5. Bogovic P., Lotric-Furlan S., Strle F. What tick-borne encephalitis may look like: clinical signs and symptoms. *Travel Med. Infect. Dis.* 2010;8(4):246–50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2010.05.011>
6. Bogovic P., Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J. Clin. Cases.* 2015;3(5):430–41. DOI: <https://doi.org/10.12998/wjcc.v3.i5.430>
7. Kubinski M., Beicht J., Gerlach T., et al. Tick-borne encephalitis virus: a quest for better vaccines against a virus on the rise. *Vaccines (Basel)*. 2020;8(3):451. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines8030451>
8. Aberle J.H., Schwaiger J., Aberle S.W., et al. Human CD4⁺ T helper cell responses after tick-borne encephalitis vaccination and infection. *PLoS One*. 2015;10(10):e0140545. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140545>
9. Varnaité R., Blom K., Lampen M.H., et al. Magnitude and functional profile of the human CD4⁺ T cell response throughout primary immunization with tick-borne encephalitis virus vaccine. *J. Immunol.* 2020;204(4):914–22. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901115>
10. Лучинина С.В., Семенов А.И., Степанова О.Н. и др. Вакцинопрофилактика клещевого энцефалита в Челябинской области: масштабы вакцинации, популяционный иммунитет, анализ случаев заболевания привитых. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016;15(1):67–76. Luchinina S.V., Semenov A.I., Stepanova O.N., et al. Vaccinal prevention of tick-borne encephalitis in Chelyabinsk region: dynamics of vaccination, population immunity, analysis of TBE cases in vaccinated persons. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2016;15(1):67–76. DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-67-76> EDN: <https://elibrary.ru/vldhlb>
11. Погодина В.В., Щербинина М.С., Скрынник С.М. и др. Эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту и вакцинопрофилактика в Курганской области (1983–2017 гг.). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018;17(4):46–55. Pogodina V.V., Shcherbinina M.S., Skrynnik S.M., et al. Epidemiological situation of tick-borne encephalitis in the Kurgan region (1983–2017). *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2018;17(4):46–55. DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-4-46-56> EDN: <https://elibrary.ru/xxfrcx>
12. Козлова Т.Ю., Хантимирова Л.М., Рукавишников А.В., Шевцов В.А. Анализ эффективности и безопасности вакцин для профилактики клещевого энцефалита. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(1):33–41. Kozlova T.Yu., Khantimirova L.M., Rukavishnikov A.V., Shevtsov V.A. Analysis of efficacy and safety of tick-borne encephalitis vaccines. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(1):33–41. DOI: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-1-33-41>
13. Ackermann-Gäumann R., Lang P., Zens K.D. Defining the "Correlate(s) of Protection" to tick-borne encephalitis vaccination and infection – key points and outstanding questions. *Front. Immunol.* 2024;15:1352720. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1352720>
14. Remoli M.E., Marchi A., Fortuna C., et al. Anti-tick-borne encephalitis (TBE) virus neutralizing antibodies dynamics in natu-

- ral infections versus vaccination. *Pathog. Dis.* 2015;73(2):1–3. DOI: <https://doi.org/10.1093/femspd/ftu002>
15. Dörrbecker B., Dobler G., Spiegel M., Hufert F.T. Tick-borne encephalitis virus and the immune response of the mammalian host. *Travel Med. Infect. Dis.* 2010;8(4):213–22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2010.05.010>
 16. Worku D.A. Tick-Borne Encephalitis (TBE): From tick to pathology. *J. Clin. Med.* 2023;12(21):6859. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm12216859>
 17. Aberle J.H., Stiasny K., Kundi M., Heinz F.X. Mechanistic insights into the impairment of memory B cells and antibody production in the elderly. *Age (Dordr.)*. 2013;35(2):371–81. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11357-011-9371-9>
 18. Lindquist L., Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet*. 2008;371(9627):1861–71. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60800-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60800-4)
 19. Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis. *Antiviral. Res.* 2003;57(1-2):129–46. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(02\)00206-1](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(02)00206-1)
 20. Simmonds P., Becher P., Bukh J., et al. ICTV virus taxonomy profile: flaviviridae. *J. Gen. Virol.* 2017;98(1):2–3. DOI: <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000672>
 21. Schwaiger J., Aberle J.H., Stiasny K., et al. Specificities of human CD4+ T cell responses to an inactivated flavivirus vaccine and infection: correlation with structure and epitope prediction. *J. Virol.* 2014;88(14):7828–42. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00196-14>
 22. Волкова Т.Д., Короев Д.О., Титова М.А. и др. Синтетические фрагменты белка ns1 вируса клещевого энцефалита, обладающие протективным действием. *Биоорганическая химия*. 2007;33(2):213–7. Volkova T.D., Koroev D.O., Titova M.A., et al. Synthetic fragments of the NS1 protein of the tick-borne encephalitis virus exhibiting a protective effect. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2007;33(2):213–7. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1068162007020021> EDN: <https://elibrary.ru/lkjlvr>
 23. Garner-Spitzer E., Wagner A., Paulke-Korinek M., et al. Tick-borne encephalitis (TBE) and hepatitis B nonresponders feature different immunologic mechanisms in response to TBE and influenza vaccination with involvement of regulatory T and B cells and IL-10. *J. Immunol.* 2013;191(5):2426–36. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300293>
 24. Lampen M.H., Uchtenhagen H., Blom K., et al. Breadth and dynamics of HLA-A2- and HLA-B7-Restricted CD8+ T cell responses against nonstructural viral proteins in acute human tick-borne encephalitis virus infection. *Immunohorizons*. 2018;2(6):172–84. DOI: <https://doi.org/10.4049/immunohorizons.1800029>
 25. Blom K., Braun M., Pakalniene J., et al. Specificity and dynamics of effector and memory CD8 T cell responses in human tick-borne encephalitis virus infection. *PLoS Pathog.* 2015;11(1):e1004622. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004622>
 26. Aregay A., Slunečko J., Bogovic P., et al. Poor virus-specific T-cell responses early after tick-borne encephalitis virus infection correlate with disease severity. *Emerg. Microbes Infect.* 2024;13(1):2317909. DOI: <https://doi.org/10.1080/22221751.2024.2317909>
 27. Růžek D., Salát J., Palus M., et al. CD8+ T-cells mediate immunopathology in tick-borne encephalitis. *Virology*. 2009;384(1):1–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.11.023>
 28. Růžek D., Salát J., Singh S.K., Kopecký J. Breakdown of the blood-brain barrier during tick-borne encephalitis in mice is not dependent on CD8+ T-cells. *PLoS One*. 2011;6(5):e20472. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020472>
 29. Slon Campos J.L., Mongkolsapaya J., Sreaton G.R. The immune response against flaviviruses. *Nat. Immunol.* 2018;19(11):1189–98. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0210-3>
 30. Sycheva A., Komech E., Pogorely M., et al. Inactivated tick-borne encephalitis vaccine elicits several overlapping waves of T cell response. *Front. Immunol.* 2022;13:970285. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.970285>
 31. Gomez I., Marx F., Saurwein-Teissl M., et al. Characterization of tick-borne encephalitis virus-specific human T lymphocyte responses by stimulation with structural TBEV proteins expressed in a recombinant baculovirus. *Viral Immunol.* 2003;16(3):407–14. DOI: <https://doi.org/10.1089/088282403322396190>
 32. Salat J., Mikulasek K., Larralde O., et al. Tick-borne encephalitis virus vaccines contain non-structural protein 1 antigen and may elicit NS1-specific antibody responses in vaccinated individuals. *Vaccines (Basel)*. 2020;8(1):81. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines8010081>
 33. Hansson K.E., Rosdahl A., Insulander M., et al. Tick-borne encephalitis vaccine failures: a 10-year retrospective study supporting the rationale for adding an extra priming dose in individuals starting at age 50 years. *Clin. Infect. Dis.* 2020;70(2):245–51. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciz176>
 34. Šmit R., Postma M.J. Review of tick-borne encephalitis and vaccines: clinical and economical aspects. *Expert Rev. Vaccines*. 2015;14(5):737–47. DOI: <https://doi.org/10.1586/14760584.2015.985661>
 35. Воробьева М.С., Эльберт Л.Б., Грачев В.П. и др. Реактогенность и иммунологическая эффективность концентрированной очищенной вакцины против клещевого энцефалита. *Вопросы вирусологии*. 1983;28(5):622–6. Vorob'eva M.S., El'bert L.B., Grachev V.P., et al. Reactogenicity and immunological effectiveness of a concentrated, purified vaccine against tick-borne encephalitis. *Problems of Virology*. 1983;28(5):622–6.
 36. Ворович М.Ф., Майкова Г.Б., Чернохаева Л.Л. и др. Иммунологическая эффективность и безопасность вакцины «Клещ-Э-вак»: «взрослая» форма. *Вопросы вирусологии*. 2017;62(2):73–80. Vorovitch M.F., Maikova G.B., Chernokhaeva L.L., et al. Immunogenicity and safety of the adult TBE vaccine «Tick-E-Vac». *Problems of Virology*. 2017;62(2):73–80. DOI: <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-73-80> EDN: <https://elibrary.ru/yjkhft>
 37. Yoshii K., Song J.Y., Park S.B., et al. Tick-borne encephalitis in Japan, Republic of Korea and China. *Emerg. Microbes Infect.* 2017;6(9):e82. DOI: <https://doi.org/10.1038/emi.2017.69>
 38. Heinz F.X., Stiasny K., Holzmann H., et al. Vaccination and tick-borne encephalitis, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2013;19(1):69–76. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1901.120458>
 39. Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Рудакова С.А. Проблемные аспекты оценки эпидемиологической эффективности вакцинопрофилактики клещевого энцефалита. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018;17(5):78–88. Pen'yevskaya N.A., Rudakov N.V., Rudakova S.A. Problematic aspects of the evaluation of the epidemiological effectiveness of vaccination against tick-borne encephalitis. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2018;17(5):78–88. DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-5-78-88> EDN: <https://elibrary.ru/yqxvvdv>
 40. Романенко В.В., Есюнина М.С., Килячина А.С., Пименова Т.А. Массовая иммунизация населения Свердловской области против клещевого энцефалита, ее эпидемиологическая, клиническая и иммунологическая эффективность вакцинопрофилактики. *Медицинская вирусология*. 2006;23:116–25. Romanenko V.V., Esiyunina M.S., Kilyachina A.S., Pimenova T.A. Mass immunization Sverdlovsk region population against tickborne encephalitis, its epidemiological, clinical and immunological effectiveness of vaccination. *Medical Virology*. 2006;23:116–25.
 41. Романенко В.В., Есюнина М.С., Килячина А.С. Опыт реализации программы массовой иммунизации населения

- против клещевого энцефалита в Свердловской области. *Вопросы вирусологии*. 2007;52(6):22–5. Romanenko V.V., Yesyunina M.S., Kilyachina A.S. Experience in implementing the mass immunization program against tick-borne encephalitis in the Sverdlovsk Region. *Problems of Virology*. 2007;52(6):22–5. EDN: <https://elibrary.ru/icdgcg>
42. Щербинина М.С., Бархалева О.А., Дорохова О.С., Мовсесянц А.А. Эффективность специфической профилактики клещевого энцефалита. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(3):174–86. Shcherbinina M.S., Barkhaleva O.A., Afonina O.S., Movsesyants A.A. Effectiveness of specific prevention of tick-borne encephalitis. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. DOI: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-3-174-186> EDN: <https://elibrary.ru/xjyyhs>
43. Kuivanen S., Hepojoki J., Vene S., et al. Identification of linear human B-cell epitopes of tick-borne encephalitis virus. *Virology*. 2014;11:115. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-115>
44. Morozova O.V., Bakhvalova V.N., Potapova O.F., et al. Evaluation of immune response and protective effect of four vaccines against the tick-borne encephalitis virus. *Vaccine*. 2014;32(25):3101–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.046>
45. Vorovitch M.F., Grishina K.G., Volok V.P., et al. Evervac: phase I/II study of immunogenicity and safety of a new adjuvant-free TBE vaccine cultivated in Vero cell culture. *Hum. Vaccin. Immunother*. 2020;16(9):2123–30. DOI: <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1757990>
46. Алпатова Н.А., Авдеева Ж.И., Гайдерова Л.А. и др. Иммунный ответ при иммунизации противовирусными вакцинами. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(1):21–9. Alpatova N.A., Avdeeva Zh.I., Gayderova L.A., et al. Immune response induced by immunisation with antiviral vaccines. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(1):21–9. DOI: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-1-21-29> EDN: <https://elibrary.ru/tbqndr>
47. de Fabritus L., Nougairède A., Aubry F., et al. Attenuation of tick-borne encephalitis virus using large-scale random codon re-encoding. *PLoS Pathog*. 2015;11(3):e1004738. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004738>
48. Kofler R.M., Heinz F.X., Mandl C.W. Capsid protein C of tick-borne encephalitis virus tolerates large internal deletions and is a favorable target for attenuation of virulence. *J. Virol*. 2002;76(7):3534–43. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.76.7.3534-3543.2002>
49. Mandl C.W., Allison S.L., Holzmann H., et al. Attenuation of tick-borne encephalitis virus by structure-based site-specific mutagenesis of a putative flavivirus receptor binding site. *J. Virol*. 2000;74(20):9601–9. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.74.20.9601-9609.2000>
50. Dutta S.K., Langenburg T. A perspective on current flavivirus vaccine development: a brief review. *Viruses*. 2023;15(4):860. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15040860>
51. Ershova A.S., Gra O.A., Lyaschuk A.M., et al. Recombinant domains III of Tick-Borne Encephalitis Virus envelope protein in combination with dextran and CpGs induce immune response and partial protectiveness against TBE virus infection in mice. *BMC Infect. Dis*. 2016;16(1):544. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1884-5>
52. Zhang M., Jin H., Jiao C., et al. An effective tick-borne encephalitis virus vaccine candidate based on virus-like particles induced specific cellular and humoral immunity in mice. 2023. Preprint. DOI: <https://doi.org/10.2139/ssrn.4528843>
53. Tang J., Fu M., Xu C., et al. Development of a novel virus-like particle-based vaccine for preventing tick-borne encephalitis virus infection. *Virology*. 2023;38(5):767–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virs.2023.06.003>
54. Beicht J., Kubinski M., Zdora I., et al. Induction of humoral and cell-mediated immunity to the NS1 protein of TBEV with recombinant Influenza virus and MVA affords partial protection against lethal TBEV infection in mice. *Front. Immunol*. 2023;14:1177324. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1177324>
55. Kubinski M., Beicht J., Zdora I., et al. A recombinant Modified Vaccinia virus Ankara expressing prME of tick-borne encephalitis virus affords mice full protection against TBEV infection. *Front. Immunol*. 2023;14:1182963. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1182963>
56. Li A., Yu J., Lu M., et al. A Zika virus vaccine expressing pre-membrane-envelope-NS1 polyprotein. *Nat. Commun*. 2018; 9(1):3067. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05276-4>
57. Nürnberger C., Bodmer B.S., Fiedler A.H., et al. A measles virus-based vaccine candidate mediates protection against Zika virus in an allogeneic mouse pregnancy model. *J. Virol*. 2019;93(3): e01485-18. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.01485-18>
58. Kisakov D.N., Kisakova L.A., Borgoyakova M.B., et al. Optimization of in vivo electroporation conditions and delivery of DNA vaccine encoding SARS-CoV-2 RBD using the determined protocol. *Pharmaceutics*. 2022;14(11):2259. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112259>
59. Li L., Petrovsky N. Molecular mechanisms for enhanced DNA vaccine immunogenicity. *Expert Rev. Vaccines*. 2016;15(3):313–29. DOI: <https://doi.org/10.1586/14760584.2016.1124762>
60. Aberle J.H., Aberle S.W., Kofler R.M., Mandl C.W. Humoral and cellular immune response to RNA immunization with flavivirus replicons derived from tick-borne encephalitis virus. *J. Virol*. 2005;79(24):15107-13. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.79.24.15107-15113.2005>
61. Kofler R.M., Aberle J.H., Aberle S.W., et al. Mimicking live flavivirus immunization with a noninfectious RNA vaccine. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004;101(7):1951–6. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0307145101>
62. Wollner C.J., Richner J.M. mRNA vaccines against flaviviruses. *Vaccines (Basel)*. 2021; 9(2):148. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines9020148>
63. Omori-Urabe Y., Yoshii K., Ikawa-Yoshida A., et al. Needle-free jet injection of DNA and protein vaccine of the far-eastern subtype of tick-borne encephalitis virus induces protective immunity in mice. *Microbiol. Immunol*. 2011;55(12):893–7. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2011.00389.x>
64. Aberle J.H., Aberle S.W., Allison S.L., et al. A DNA immunization model study with constructs expressing the tick-borne encephalitis virus envelope protein E in different physical forms. *J. Immunol*. 1999;163(12):6756–61.
65. Korber B., Fischer W. T cell-based strategies for HIV-1 vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother*. 2020;16(3):713–22. DOI: <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1666957>
66. Vita R., Mahajan S., Overton J.A., et al. The Immune Epitope Database (IEDB): 2018 update. *Nucleic Acids Res*. 2019; 47(D1):D339-43. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1006>
67. Antonets D.V., Bazhan S.I. PolyCTLDesigner: a computational tool for constructing polypeptide T-cell antigens. *BMC Res. Notes*. 2013;6:407. DOI: <https://doi.org/10.1186/1756-0500-6-407>
68. Ezzemani W., Windisch M.P., Altawalah H., et al. Design of a multi-epitope Zika virus vaccine candidate — an in-silico study. *J. Biomol. Struct. Dyn*. 2023;41(9):3762–71. DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2022.2055648>
69. Fadaka A.O., Sibuyi N.R.S., Martin D.R., et al. Immunoinformatics design of a novel epitope-based vaccine candidate against dengue virus. *Sci. Rep*. 2021;11(1):19707. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99227-7>
70. Nguyen TL, Kim H. Immunoinformatics and computational approaches driven designing a novel vaccine candidate against

- Powassan virus. *Sci. Rep.* 2024;14(1):5999.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-56554-9>
71. Choi H., Kudchodkar S.B., Ho M., et al. A novel synthetic DNA vaccine elicits protective immune responses against Powassan virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020;14(10):e0008788.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008788>
 72. Khan N.T., Zinnia M.A., Islam A.B.M.M.K. Modeling mRNA-based vaccine YFV.E1988 against yellow fever virus E-protein using immuno-informatics and reverse vaccinology approach. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2023;41(5):1617–38.
DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.2024253>
 73. Borgoyakova M.B., Volosnikova E.A., Ilyichev A.A., Karpenko L.I. Approaches to improve the immunogenicity of plasmid DNA-based vaccines against COVID-19. In: *Population Genetics — From DNA to Evolutionary Biology*. IntechOpen; 2023.
DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.113945>
 74. Боргоякова М.Б., Карпенко Л.И., Рудометов А.П. и др. Искусственный Т-клеточный иммуноген против COVID-19. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023;175(6):767–72. Borgoyakova M.B., Karpenko L.I., Rudometov A.P., et al. Artificial COVID-19 T-cell immunogen. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023;175(6):767–72.
DOI: <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2023-175-6-767-772>
EDN: <https://elibrary.ru/ccsroy>
 75. Chakraborty A., Bayry J., Mukherjee S. Immunoinformatics approaches in designing vaccines against COVID-19. *Methods Mol. Biol.* 2023;2673:431–52.
DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3239-0_29
 76. Enayatkhani M., Hasaniyazad M., Faezi S., et al. Reverse vaccinology approach to design a novel multi-epitope vaccine candidate against COVID-19: an in silico study. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2021;39(8):2857–72.
DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1756411>
 77. Sarkar B., Ullah M.A., Johora F.T., et al. Immunoinformatics-guided designing of epitope-based subunit vaccines against the SARS Coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *Immunobiology*. 2020;225(3):151955.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2020.151955>
 78. Karpenko L.I., Apartsin E.K., Dudko S.G., et al. Cationic polymers for the delivery of the Ebola DNA vaccine encoding artificial T-cell immunogen. *Vaccines (Basel)*. 2020;8(4):718.
DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines8040718>
 79. Alizadeh M., Amini-Khoei H., Tahmasebian S., et al. Designing a novel multi epitope vaccine against Ebola virus using reverse vaccinology approach. *Sci. Rep.* 2022;12(1):7757.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11851-z>
 80. Shankar U., Jain N., Mishra S.K., et al. Mining of Ebola virus genome for the construction of multi-epitope vaccine to combat its infection. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2022;40(11):4815–31.
DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1874529>
 81. Albaqami F.F., Altharawi A., Altharwi H.N., et al. Computational modeling and evaluation of potential mRNA and peptide-based vaccine against Marburg Virus (MARV) to provide immune protection against hemorrhagic fever. *Biomed. Res. Int.* 2023;2023:5560605.
DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/5560605>
 82. Bazhan S.I., Antonets D.V., Starostina E.V., et al. In silico design of influenza A virus artificial epitope-based T-cell antigens and the evaluation of their immunogenicity in mice. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2022;40(7):3196–212.
DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1845978>
 83. Mia M.M., Hasan M., Ahmed S., Rahman M.N. Insight into the first multi-epitope-based peptide subunit vaccine against avian influenza A virus (H5N6): An immunoinformatics approach. *Infect. Genet. Evol.* 2022;104:105355.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105355>
 84. Sharma S., Kumari V., Kumbhar B.V., et al. Immunoinformatics approach for a novel multi-epitope subunit vaccine design against various subtypes of Influenza A virus. *Immunobiology*. 2021;226(2):152053.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2021.152053>
 85. Старостина Е.В., Шарабрин С.В., Рудометов А.П. и др. Иммуногенный ответ на ДНК- и мРНК-вакцины, кодирующие искусственные иммуногены вируса гриппа. *Российский иммунологический журнал*. 2022;25(3):321–6. Starostina E.V., Sharabrin S.V., Rudometov A.P., et al. Immune response against DNA- and mRNA vaccines encoding artificial influenza virus immunogens. *Russian Journal of Immunology*. 2022;25(3):321–6.
DOI: <https://doi.org/10.46235/1028-7221-1103-IRA>
EDN: <https://elibrary.ru/yuzmag>
 86. Stieh D.J., Barouch D.H., Comeaux C., et al. ASCENT/HVTN118/HPX2003 Study Team. Safety and immunogenicity of Ad26-vectored HIV vaccine with mosaic immunogens and a novel mosaic envelope protein in HIV-uninfected adults: A phase 1/2a study. *J. Infect. Dis.* 2023;227(8):939–50.
DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiac445>
 87. Карпенко Л.И., Бажан С.И., Богрянцева М.П. и др. Комбинированная вакцина против ВИЧ-1 на основе искусственных полиэпитопных иммуногенов: результаты I фазы клинических испытаний. *Биоорганическая химия*. 2016;42(2):191–204. Karpenko L.I., Bazhan S.I., Bogryantseva M.P., et al. Results of phase I clinical trials of a combined vaccine HIV-1 based on synthetic polypeptide immunogens. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2016;42(2):191–204.
DOI: <https://doi.org/10.7868/S0132342316020068>
EDN: <https://elibrary.ru/vlwpwyv>
 88. Кисаков Д.Н., Антоненц Д.В., Шабурова Е.В. и др. ДНК-вакцина, кодирующая искусственный Т-клеточный полиэпитопный иммуноген вируса клещевого энцефалита. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023;176(7):85–9. DOI: 10.47056/0365-9615-2023-176-7-85-89 EDN: <https://elibrary.ru/jlcmud> Kisakov D.N., Antonets D.V., Shaburova E.V., et al. DNA vaccine encoding the artificial T-cell polypeptide immunogen of tick-borne encephalitis virus. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2023;176(1):72–6.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-023-05970-4>

Информация об авторах

Тигеева Елена Витальевна[✉] — м.н.с. отдела биоинженерии ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия, tigeeva_ev@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0001-5203-2130>

Низоленко Лилия Филипповна — к.б.н., с.н.с. отдела биоинженерии ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия, nizolenko@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9647-4969>

Карпенко Лариса Ивановна — д.б.н., зав. лабораторией рекомбинантных вакцин, в.н.с. отдела биоинженерии ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4365-8809>

Участие авторов: *Тигеева Е.В.* — написание текста рукописи, критический пересмотр и редактирование текста рукописи, работа с графическим материалом, сбор данных литературы, анализ и обобщение данных литературы; *Низоленко Л.Ф.* — оформление рукописи, сбор данных литературы, анализ и обобщение данных литературы; *Карпенко Л.И.* — обоснование концепции исследования (формулирование идеи, целей и задач), написание текста рукописи, критический пересмотр и редактирование текста рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 14.06.2024;
принята к публикации 10.08.2024;
опубликована 29.08.2024

Information about the authors

Elena V. Tigeeva[✉] — junior researcher, Bioengineering department, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Russia, tigeeva_ev@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0009-0001-5203-2130>

Lily F. Nizolenko — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Bioengineering department, State Scientific Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9647-4969>

Larisa I. Karpenko — D. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of recombinant vaccines, leading researcher, Bioengineering department, State Scientific Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4365-8809>

Author contribution: *Tigeeva E.V.* — writing the manuscript, critical review and editing of the manuscript text, work with graphic material, collection of literature data, analysis and generalization of literature data; *Nizolenko L.F.* — manuscript design, collection of literature data, analysis and generalization of literature data; *Karpenko L.I.* — justification of the research concept (formulation of the idea, aims and objectives), writing the manuscript, critical review and editing of the manuscript. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the article, acquisition, analysis, interpretation of data for the article, drafting and revising the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 14.06.2024;
accepted for publication 10.08.2024;
published 29.08.2024

Научный обзор

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-512>

Оценка современного состояния фармацевтической разработки противостафилококковых профилактических препаратов

Буйлова И.А.[✉], Савкина М.В., Саяпина Л.В., Кривых М.А., Обухов Ю.И.

Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия

Аннотация

Инфекция, вызванная *Staphylococcus aureus*, является самой распространённой, приводящей к развитию серьёзных осложнений у человека. *S. aureus* относится к высоколетальным патогенам при бактериемии со смертностью примерно 18% в благополучных странах и до 27% — в развивающихся.

Одним из самых поразительных и сложных аспектов клинических проявлений, вызванных *S. aureus*, считается способность бактерии вырабатывать устойчивость к антибиотикам. Своевременной необходимостью является разработка альтернативных способов лечения стафилококковой инфекции. Перспективным направлением следует рассматривать применение иммунотерапии и иммунопрофилактики для активации противоинфекционного иммунного ответа у пациентов.

Цель обзора — анализ основных тенденций в разработке вакцин, направленных на профилактику инфекций, вызываемых *S. aureus*, и факторов вирулентности *S. aureus*.

В обзоре рассмотрены проводимые в последние годы разработки лекарственных препаратов, направленные на профилактику и лечение инфекций, вызываемых *S. aureus*. Особое внимание уделяется факторам патогенности (капсула, поверхностные белки и ферменты), которые могут быть полезны для создания новых вакцин-кандидатов или иммунных терапевтических средств. За последние годы проведение многочисленных клинических исследований кандидатов-вакцин, созданных на основе различных антигенов, с учётом особо значимых факторов патогенности стафилококка, оказывающих влияние на заболеваемость, не увенчались успехом из-за их низкой эффективности или недостаточно обоснованной безопасности (развитие нежелательных явлений). Одним из важнейших факторов, сдерживающих разработку вакцины, является отсутствие успешной трансляции протективности вакцины, которая наблюдается в доклинических исследованиях на экспериментальных моделях, но не подтверждается в клинических исследованиях.

Таким образом, по мнению многочисленных исследователей, необходимо рассматривать использование в составе вакцин несколько антигенов, сосредоточив внимание на различных механизмах патогенности *S. aureus*, включая использование адъювантов.

Ключевые слова: противостафилококковые вакцины, профилактика, стафилококковые инфекции

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России № 056-00026-24-00 на проведение прикладных научных исследований (№ гос. учёта НИР 124022200103-5).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Буйлова И.А., Савкина М.В., Саяпина Л.В., Кривых М.А., Обухов Ю.И. Оценка современного состояния фармацевтической разработки противостафилококковых иммунопрофилактических и иммунотерапевтических лекарственных препаратов и совершенствование методологических подходов к их экспертизе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):560–572.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-512>

EDN: <https://www.elibrary.ru/feqcvb>

Review

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-512>

Assessment of the current state of pharmaceutical development of anti-staphylococcal prophylactic drugs

Irina A. Builova[✉], Maria V. Savkina, Lidiya V. Sayapina, Maxim A. Krivykh, Yuri I. Obukhov

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia

Abstract

Infection caused by *Staphylococcus aureus* is the most common infection leading to the development of serious complications in humans. *S. aureus* is among the highly lethal bacteremia-associated pathogens with a mortality rate of approximately 18% in industrial countries; in developing countries, the rate is even higher, up to 27%. One of the most striking and challenging aspects of clinical manifestations caused by *S. aureus* is the ability of the bacterium to develop resistance to antibiotics. The development of alternative treatment options for staphylococcal infection is urgently needed. The use of immunotherapy and immunoprophylaxis to activate the anti-infection immune response in patients should be considered as a promising direction.

Objective: to analyze the main trends in the development of vaccines aimed at the prevention of *S. aureus* infection and its virulence factors.

The present review discusses vaccine development in recent years aimed at preventing infection caused by *S. aureus*. Particular attention is paid to pathogenicity factors (such as capsule, surface proteins and enzymes) that may be useful for the development of new candidate vaccines or immune therapeutics. In recent years, numerous clinical trials of candidate vaccines based on different antigens, taking into account particularly relevant *S. aureus* pathogenicity factors that influence morbidity, have not been successful due to their low efficacy or insufficiently substantiated safety (development of adverse events). One of the most important factors constraining vaccine development is the lack of successful translation of vaccine protective activity, which is observed in preclinical studies in experimental models but not confirmed in clinical trials.

Therefore, according to numerous researchers, the use of multiple antigens in vaccine formulations should be considered with the focus on different mechanisms of *S. aureus* pathogenicity and the use of adjuvants.

Keywords: anti-staphylococcal vaccines, prophylaxis, staphylococcal infections

Funding source. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Scientific Center expertise of Medicinal Products No. 056-00026-24-00 for applied scientific research (state registration number 124022200103-5).

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Builova I.A., Savkina M.V., Sayapina L.V., Krivykh M.A., Obukhov Yu.I. Assessment of the current state of pharmaceutical development of antistaphylococcal immunoprophylactic and immunotherapeutic drugs and improvement of methodological approaches to their expertise. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2024;101(4):560–572.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-512>

EDN: <https://www.elibrary.ru/feqcvb>

Цель данного обзора — анализ основных тенденций по разработке вакцин, направленных на профилактику инфекций, вызываемых *Staphylococcus aureus*.

Задачи: оценка современных мировых исследований по разработке лекарственных препаратов, направленных на и лечение профилактику инфекций, вызываемых *S. aureus*, и перспективы их развития.

Инфекция, вызываемая *S. aureus*, является самой распространённой, приводит к развитию серьёзных осложнений у человека. При этом определённые группы людей, в том числе лица, получающие гемодиализ, пациенты с диабетом, имеющие сердечно-сосудистые или другие сопутствующие заболевания, подвержены более высокому риску развития осложнений при инфицировании бактериями или продукцией токсинов, например, при пищевом отравлении и синдроме токсического шока [1]. *S. aureus* принадлежит к семейству *Micrococcaceae* и представляет собой грамположительные кокки, расположенные в виноградоподобных кластерах. Методы дифференциации *S. aureus* от других видов стафилококков основаны на определении золотой пигментации колоний и положительных тестов на коагулазу, ферментацию маннита и дезоксирибонуклеазы [2].

S. aureus является комменсальной бактерией, при этом назальное носительство в популяции человека составляет более 30% [1]. *S. aureus* является вездесущим для человека патогеном, наиболее часто вызывающим инфекции кожи, мягких тканей, эндокардит, и становится основной причиной возникновения внутрибольничных инфекций, в том числе вентилятор-ассоциированной пневмонии, внутривенных катетер-ассоциированных инфекций, послеоперационных раневых инфекций, а также инвазивных инфекций у пациентов с иммуносупрессией [3–9].

S. aureus относится к высоколетальным патогенам при бактериемии со смертностью примерно 18% в благополучных странах и до 27% — в развивающихся [10, 11]. Инфекции, вызванные *S. aureus*, в настоящее время считаются наиболее частой причиной госпитализации для хирургического дренирования гноя у детей и бактериемии у лиц старше 65 лет, а также серьёзным осложнением инфицирования протезов и внутрисосудистых катетеров [1].

Одним из самых поразительных и сложных аспектов клинических проявлений, вызванных *S. aureus*, является способность бактерии вырабатывать устойчивость к антибиотикам. Этот эффект был продемонстрирован во время появления мети-

циллин-резистентного *S. aureus* (MRSA) в 1960-х гг. В последние годы выявляются штаммы, проявляющие умеренную, а в редких случаях полную устойчивость к ванкомицину (VRSA) — одному из основных препаратов, используемых для лечения инфекции, вызванной MRSA [10].

Средняя доля штаммов MRSA в Европейском союзе значительно различается между странами: от менее 1% в Дании, Исландии, Норвегии и Швеции до более 25% в других странах [1]. При этом MRSA часто вызывает развитие внутрибольничных инфекций во многих странах мира. Высокие показатели (> 50%) штаммов MRSA были зарегистрированы в Азии, на Мальте, в Северной и Южной Америке в начале 2010-х гг. [11]. В Азии наблюдается наибольшая распространённость внутрибольничного и внебольничного MRSA в мире.

Согласно докладу Всемирной организации здравоохранения по отчётам, представленным из 76 стран, медиана метициллин-резистентного *S. aureus*, вызывающего бактериемию и, как следствие, инфицирование различных органов человека, составляет 35% [13].

На основании вышеизложенного следует, что необходима разработка альтернативных способов лечения стафилококковой инфекции. Как перспективное следует рассматривать применение иммунотерапии и иммунопрофилактики для активации противоинфекционного иммунного ответа у пациентов. За последние два десятилетия научными сообществами была проделана значительная работа по созданию противостафилококковых вакцин, и тем не менее ни один кандидат на вакцину не доказал свою эффективность во время клинических испытаний [10].

В настоящее время в разработке вакцин против *S. aureus* широко используются современные инновационные подходы, направленные на совершенствование технологических процессов, улучшение параметров производимых продуктов, способных вызывать развитие гуморальных и клеточных реакций врождённого и приобретённого иммунитета [10].

S. aureus имеет несколько факторов патогенности, ориентированных на подавление ключевых компонентов иммунной системы. В многочисленных исследованиях показано, что *S. aureus* обладает способностью к колонизации, а именно: прикрепление к тканям хозяина и размножения, что, в свою очередь, приводит к включению неспецифических механизмов защиты [10].

В представленном обзоре рассматриваются проводимые в последние годы разработки вакцин, направленные на профилактику инфекций, вызываемых *S. aureus*. Особое внимание уделяется факторам патогенности, которые могут быть полезны для создания новых вакцин-кандидатов или иммунных терапевтических средств.

Факторы патогенности *S. aureus*, имеющие значение при разработке вакцин

Различные компоненты *S. aureus*, такие как капсула, поверхностные белки и ферменты, являются возможными мишенями для использования их в качестве основы для новых вакцин, способных обеспечить защиту людей от инфекций [14, 15]. Рассмотрим основные факторы патогенности *S. aureus* и приведём примеры их применения для разработки вакцин-кандидатов.

Капсулы

Обнаружение капсулы у *S. aureus* было впервые описано I. Gilbert в 1931 г. Роль капсулы заключается в защите бактерий от распознавания фагоцитирующими клетками, делая их устойчивыми к фагоцитозу [16, 17]. Примерно 90% выделенных клинических изолятов продуцируют капсульные полисахариды. Определены 11 серотипов инкапсулированных штаммов, из которых наиболее часто встречаются 5-й и 8-й серотипы. Капсульный полисахарид (CPS) представляет собой высокомолекулярные углеводные полимеры, состоящие из N-ацетил-D-фукозамина, N-ацетил-L-фукозамина и N-ацетил-D-манносаминауроной кислоты. При этом 5-й и 8-й серотипы различаются между собой только связями между сахарами и сайтами O-ацетилирования остатков манносаминауроной кислоты [17, 18].

Капсульные антигены являются одними из первых целевых антигенов, используемых в качестве основы в исследованиях при разработке вакцин, предназначенных для защиты от стафилококковой инфекции. Механизмы защиты капсульными прототипами вакцин обусловлены содействием патогену посредством опсонофагоцитоза. При разработке вакцин нового поколения учитывались ранее полученные результаты, которые показали, что очищенные полисахариды, ковалентно связанные с молекулами белка-носителя, приводят к увеличению уровня антител и активации Т-клеток, способных выполнять эффекторную роль, участвовать в распознавании антигенов и индуцировать иммунные реакции, при этом уровень антител сохраняется и остаётся стабильным [1, 19–21].

Белок А

Стафилококковый белок А (SpA), находящийся в оболочке клеточной стенки *S. aureus*, связывает Fc γ -домен иммуноглобулина (Ig) и сшивает Fab-домен В-клеточных рецепторов VH3-типа (IgM), также был привлекательным в качестве протективного антигена для нового прототипа вакцины [1]. Известно, что SpA, блокируя опсонофагоцитоз, предотвращает активацию компонентов системы комплемента, других медиаторов и клеток

иммунной системы хозяина, защищает *S. aureus* от разрушения/гибели.

F. Falugi и соавт. провели исследования на мышах с использованием в качестве вакцины-кандидата SpA против инфекции, вызванной *S. aureus*. Полученные результаты показали, что секретируемые продукты не способствуют связыванию SpA с Ig для противодействия фагоцитозу и перекрестному связыванию рецепторов В-клеток, опосредованных SpA для блокировки выработки антител у мышей [22], и эти субъединичные вакцины не были рекомендованы для дальнейших исследований. Предполагается, что экспрессия SpA у *S. aureus* и его связывание с Ig препятствуют ответу В-клеток при инфекции, тем самым подавляя развитие специфического иммунитета. Однако нарушение вирулентности стафилококка посредством мутаций в SpA, иммунизации нетоксигенным SpA или введения моноклональных антител, нейтрализующих SpA, может вызывать у мышей защитные антитела против высоковирулентных штаммов MRSA [22].

Адгезины

Значительная роль в ряду факторов патогенности во взаимодействии между *S. aureus* и клетками-хозяина отводится адгезинам, которые обеспечивают способность *S. aureus* прикрепляться к различным клеткам и веществам макроорганизма, таким как внеклеточный матрикс и белки плазмы. Наиболее охарактеризованными поверхностными адгезинами, ковалентно связанными с пептидогликановой клеточной стенкой из семейства белков MSCRAMM, являются белки ClfA и B, Spa, IsdA, B и H, FnBPA и B, SdrC, D и E [23–25].

Одним из вариантов создания прототипов вакцин в качестве антигенов исследователи рассматривают белок ClfA, являющийся антифагоцитарным, защищающим бактерии от опсонофагоцитоза, что подтверждает фактор патогенности в некоторых моделях развития инфекций, включая эндокардит, сепсис и септический артрит [26, 27].

Проводились работы по созданию прототипов вакцин против *S. aureus* с использованием различных кандидатов в антигены, в том числе продуцирующих *S. aureus* двух близкородственных фибронектин-связывающих белков (FnBP): FnBPA и FnBPB, которые участвуют в патогенезе инфекции *S. aureus*, способствуя прикреплению бактерий к клеткам-хозяевам. В экспериментальных работах С. Neilmann и соавт. установили, что значительную роль в индукции эндокардита, вызванного *S. aureus*, играет белок FnBPA, обладающий способностью прикрепляться к тромбоцитам и вызывать их агрегацию [28, 29]. Коллагеновый адгезин (Spa) представляет собой белок, отвечающий за связывание с несколькими типами коллагена. Spa является фактором вирулентности при септическом артрите и остео-

миелите, который опосредует бактериальную колонизацию хрящей и костей. Проведёнными испытаниями установлено, что мыши, иммунизированные антигеном Spa-FnBP, выживали после заражения *S. aureus* значительно дольше, чем неиммунизированные мыши [30].

Как привлекательного кандидата в протективные антигены некоторые учёные рассматривают консервативный транспортный белок марганца С (MntC), являющийся высококонсервативным белком среди штаммов MRSA и VRSA, способный связывать каскад свертывания крови, в том числе плазминогена, посредством лизина, с различным внеклеточным матриксом. Полученные результаты при моделировании инфекции *S. aureus* у лабораторных животных показали, что введение белка MntC обеспечивает развитие иммунитета, защищающего мышей от инфекции *S. aureus*, за счёт значительного повышения уровня IgG в сыворотке крови при непосредственном участии Т-иммунокомпетентных клеток [1, 31, 32]. В настоящее время MntC является компонентом вакцины SA4Ag, проходящей II фазу клинических испытаний [32].

Токсины

При изучении влияния различных факторов патогенности, используемых в качестве перспективных кандидатов при разработке вакцин, установлено, что значительная роль в данном направлении отводится токсинам *S. aureus*, обладающим гемолитическими, цитотоксическими и цитолитическими свойствами, а также способствующим успешной инвазии и размножению бактерий в организме хозяина [33]. Среди токсинов следует выделить 2 семейства: порообразующие токсины и суперантигены, из которых наиболее значимыми представителями, являются суперантигены [34–38].

Суперантигены представляют собой разнообразную группу белковых экзотоксинов, относящихся к наиболее мощным митогенам Т-клеток. Они действуют путём перекрёстного связывания между MHC-II и β-цепью Т-клеточного рецептора, индуцируют активацию антигенпрезентирующих клеток и Т-лимфоцитов, что приводит к высвобождению большого количества провоспалительных цитокинов. К настоящему времени были идентифицированы различные типы стафилококковых энтеротоксинов, включая следующие варианты белков: А–Е, G–J и R–T (SEA-SEE, SEG-SEJ, SER-SET), tSE-подобные токсины K–Q и U–X (SEIK-SEIQ, SEIU-SEIX) и TSST-1 [1, 39, 40].

Особого внимания заслуживают эксфолиативные токсины *S. aureus* ETA, ETB и ETD способные расщеплять десмосомальный кадгерин десмоглеин 1, опосредующий межклеточную адгезию в поверхностном слое кожи, приводя к стафилококковому синдрому обожжённой кожи. Данные суперанти-

гены обладают уникальными свойствами, которые активируют пролиферацию Т-клеток [1, 41].

Ферменты

Ферменты способны поставлять микробной клетке питательные субстраты и обеспечивать защиту от действия факторов иммунной системы. *S. aureus* может экспрессировать протеазы, липазу, дезоксирибонуклеазу и фермент, модифицирующий жирные кислоты. В нескольких исследованиях *in vitro* показано, что ферменты являются важными факторами патогенности *S. aureus*, который из-за диффузии различных факторов (фагоцитоз, цитокины, фактор некроза опухоли- α и др.) внутри организма хозяина изменяет свой фенотип с адгезивно-го на инвазивный [1].

Важным фактором патогенности при стафилококковых инфекциях является коагулаза (белок), наиболее известная своей способностью индуцировать свёртывание крови путём активации протромбина [42].

Разработка противостафилококковых вакцин-кандидатов

За последние годы проведение многочисленных клинических исследований кандидатов-вакцин, созданных на основе различных антигенов с учётом особо значимых факторов патогенности *S. aureus*, оказывающих влияние на заболеваемость, не увенчалось успехом из-за низкой их эффективности или недостаточно обоснованной безопасности (развитие нежелательных явлений). Как перспективные направления в разработке вакцин против *S. aureus*, по мнению исследователей, необходимо рассматривать использование нескольких антигенов, включая адьюванты, сосредоточив внимание на различных механизмах патогенности *S. aureus*.

В таблице приведены наименования созданных потенциальных кандидатов в вакцины, исследования которых к настоящему времени или проходят различные фазы клинических исследований или из-за недостаточности подтверждения эффективности и безопасности были прекращены.

Одним из наиболее перспективных кандидатов в вакцины является бивалентная полисахаридная вакцина **StaphVAX**, разработанная компанией «Nabi Biopharmaceuticals». Потенциальная вакцина включает два наиболее распространённых капсульных полисахарида — CP5 и CP8, способствующие развитию около 80% внутрибольничных инфекций, вызванных *S. aureus*, конъюгированных с детоксицированной формой экзотоксина А *Pseudomonas aeruginosa*. Клинические исследования фазы II вакцины-кандидата бивалентной полисахаридной StaphVAX проводили у пациентов с хронической почечной недостаточностью, получающих амбулаторный перитонеальный диализ. Полученные ре-

зультаты свидетельствовали о её эффективности, т. к. введение StaphVAX обеспечивало развитие противостафилококкового иммунного ответа у пациентов после вакцинации и было безопасным [1]. Фазу III клинических исследований кандидата StaphVAX проводили у пациентов, которым предстояла операция через 3–54 нед после вакцинации. Однако во время фазы III (через 40 нед) клинических исследований наблюдали снижение уровня сывороточных антител у вакцинированных пациентов. В то же время в рамках исследования в определённые периоды были обнаружены и положительные явления, характеризующиеся частичным снижением бактериемии, вызванной *S. aureus*. Достоверных различий в количестве смертей в вакцинированных и контрольных группах не выявлено [17, 43, 44]. Несмотря на то, что при исследовании в фазе III были получены положительные результаты, для регистрации в США Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств рекомендовало проведение второго исследования фазы III. Результаты этого исследования показали, что StaphVAX снижает бактериемию, вызванную *S. aureus*, на 64% через 32 нед наблюдения, на 57% — через 40 нед, на 26% — через 54 нед. Таким образом, после анализа полученных результатов по эффективности и безопасности выявлено достаточно быстрое снижение титра антител, начиная с 32-й недели после вакцинации, что послужило основанием не рекомендовать кандидата в вакцину StaphVAX для регистрации и применения в медицинской практике [19, 45, 46].

Разработанная компаниями «Merck» и «Intercell» вакцина-кандидат **V710**, содержащая поверхностную детерминанту железа В (IsdB), представляет собой высококонсервативный поверхностный белок *S. aureus*. В доклинических исследованиях кандидата V710 показано развитие протективного иммунитета при моделировании заражения *S. aureus* у лабораторных животных. Положительные результаты доклинических исследований кандидата послужили основанием для проведения дальнейших исследований. Клинические исследования осуществлялись в 2007–2011 гг. В 2011 г. для оценки эффективности и безопасности препарата проводили клинические исследования фазы IIb/III у вакцинированных пациентов перед проведением кардиоторакальных операций. На основании полученных результатов установлено, что среди пациентов со срединной стернотомией введение препарата V710 не снижало частоту серьёзных послеоперационных инфекций, вызванных *S. aureus*, по сравнению с плацебо, что приводило к повышению риска смертности среди пациентов [47]. При этом установлено, что у вакцинированных пациентов, перенёвших хирургические операции, в сыворотке крови обнаруживали снижение уровня цитокинов —

Резюме клинических исследований различных антигенов вакцин-кандидатов против *S. aureus*

Summary of clinical studies of different candidate vaccine antigens against *S. aureus*

Вакцина кандидат Vaccine candidate	Антигены Antigens	Разработчик Developer	Клинические исследования Clinical trials	Адьювант Adjuvant	Ссылки References
StaphVAX	CP5 & CP8	«Nabi»	Провал фазы III Phase III failure	Отсутствует Absent	[19, 49, 50]
V710	IsdB	«Merck»	Провал фазы III Phase III Failure	Отсутствует Absent	[53]
SA75	Цельноклеточная вакцина Whole cell vaccine	«Vaccine Research International»	Фаза I Phase I	Отсутствует Absent	[20, 54]
SA4Ag	ClfA, MntC, CP5 & CP8	«Pfizer»	Фаза IIb Phase IIb	Отсутствует Absent	[19–21, 51, 52]
GSK2392103A	CP5, CP8, столбнячный анатоксин, мутантные формы α-гемолизина, ClfA CP5, CP8, tetanus anatoxin, mutant forms of alpha-hemolysin, ClfA	«GlaxoSmithKline»	Фаза I Phase I	AS03B	[53]
4C-Staph	Hla, FhuD2, Csa1A, EsxAB	«Novartis»	ДоКИ	TLR7-зависимый TLR7-dependent	[54–56]
1. STEBVAX 2. IBT-V02	1. SEB + Алюминий Aluminium 2. SEB, SEA, TSST-1, LukS, LukF, LukAB, Hla + Алюминий Aluminium	«Integrated BioTherapeutic»	Фаза I Phase I	Алгидрогель Alhydrogel	[1, 10, 57]
Pentastaph	StaphVax + тейхоевая кислота teichoic acid, PVL (rLukS-PV/rAT), Hla	«GlaxoSmithKline»	Фаза I/II Phase I/II	Отсутствует Absent	[20, 59]
rFSAV	Hla, SpA, SEB, IsdB, MntC + Алюминий Aluminium	«Olymvax»	Фаза II Phase II	Алюминий Aluminum	[60, 61]
<i>S. aureus</i> Toxoids	LukS-PV	Uniformed Services University of the Health Sciences	Фаза I Phase I	Алюминий Aluminum	[62, 63]

интерлейкина (ИЛ)-2 и ИЛ-17 и, как следствие, развитие осложнений, вызванных *S. aureus*, заканчивающиеся летальным исходом [19, 48]. Учитывая, что ИЛ-17 и ИЛ-2 играют решающую роль в задержке роста, размножении и гибели *S. aureus* в организме пациента, а введение препарата вызывает их снижение, приводящее к манифестации инфекционного заболевания, сделано заключение о прекращении проведения дальнейших клинических исследований препарата V710 из-за низкой эффективности и развития нежелательных реакций [49].

В 2006 г. компания «Vaccine Research International Plc» завершила I фазу клинических исследований вакцины-кандидата SA75, представляющей собой цельные клетки *S. aureus*, инактивированные хлороформом, предназначенной для профилактики внутрибольничных инфекций, вызванных *S. aureus*. По результатам исследований подтверждены эффективность и безопасность вакцины. Однако дальнейшие работы были приостановлены [1, 50].

Разработчиком кандидатной вакцины SA4Ag, состоящей из 4 антигенов: молекулы адгезии ClfA, переносчика марганца MntC и антифагоцитарных

капсулярных полисахаридов CP5 и CP8, конъюгированных с белком CRM197, выступала компания «Pfizer». Вакцина SA4Ag показала хорошую эффективность против прогрессирующего развития инфекции *S. aureus* в исследованиях на животных. Иммунизация мышей комплексом антигенов SA4Ag резко снизила развитие у них бактериальной популяции при инфекции глубоких тканей, бактериемии и модели пиелонефрита. Однако благоприятные результаты доклинических исследований, полученные при введении препарата SA4Ag, в достаточной мере не смогли продемонстрировать его использование для предотвращения инвазивной инфекции *S. aureus*, связанной с хирургическим вмешательством [51]. Несмотря на то что вакцина-кандидат SA4Ag индуцировала сильные функциональные иммунные ответы на каждый антиген по сравнению с плацебо, она не показала эффективности в предотвращении послеоперационной инфекции, вызванной *S. aureus* (14 случаев в каждой группе до 90-го дня после операции) [52].

Вакцина-кандидат GSK (GSK2392103A) представляет собой четырёхкомпонентную стафилококковую вакцину, содержащую полисахариды 5 и 8,

конъюгированные со столбнячным анатоксином (ТТ) (CPS5-ТТ, CPS8-ТТ), мутантную форму гемолизина-1 (α -токсин; АТ) и ClfA. Фаза I клинических исследований завершилась в 2012 г. Вакцина оказалась безопасной и вызывала гуморальные иммунные реакции после 1-й дозы вакцины¹. При введении 88 здоровым добровольцам в возрасте 18–40 лет кандидата-вакцины CPS5-ТТ/CPS8-ТТ/АТ/ClfA 5/5/10/10 мкг или 10/10/30/30 мкг дозы, через 0, 1, 6 мес концентрация антител у реципиентов резко возрастала к 14 сут после вакцинации [53].

Созданная компанией «Novartis» четырёхкомпонентная вакцина-кандидат **4C-Staph** включает 5 антигенов *S. aureus*: генетически детоксицированное производное секретируемого α -токсина или α -гемолизина (Hla), FhuD2 и Csa1A, а также EsxAВ (слитый белок, содержащий EsxA и EsxB). Предложенный состав антигенов при введении мышам защищал их от инфекции *S. aureus* за счёт индукции специфических антител. Данный препарат 4C-Staph находится на стадии доклинических исследований. При проведении экспериментальных работ А. Torre и соавт. обнаружили, что введение 4C-Staph может компенсировать дефицит нейтрофилов у мышей с нейтропенией, активируя макрофаги и моноциты в очаге инфекции. Полученные результаты могут иметь важное значение в последующих исследованиях, направленных на разработку новых противо-стафилококковых вакцин [54–56].

Разработанный компанией «Integrated BioTherapeutic» прототип вакцины **STEBVAX** представляет собой рекомбинантную форму стафилококкового энтеротоксина В (SEB), содержащую 3 точечные мутации (*L45R*, *Y89A* и *Y94A*), которые блокируют взаимодействие токсина с человеческими рецепторами МНС класса II. В экспериментах на лабораторных животных иммунизация SEB защищала мышей не только от заражения энтеротоксином, но и от SEA, SEC1 (направленные стафилококковые энтеротоксины типа А и С1) или TSST-1 (токсин синдрома токсического шока) [1]. В 2015 г. анализ результатов, полученных в фазе I клинических исследований², показал, что введение препарата индуцировало выработку специфических антител [57].

Компания «Integrated BioTherapeutics» в своё время также занималась разработкой 7-валентной вакцины-кандидата против *S. aureus*, состоящей из 7 анатоксинов *S. aureus*: Hla, F и S субъединицы лейкоцидина Пантона–Валентайна (PVL), лейкоцидина А/В, SEA, SEB и токсина синдрома токсического шока 1 [10]. Данные доклинических исследо-

ваний показали, что препарат **IBT-V02**, созданный на основе анатоксинов, обеспечивает защиту мышей и кроликов от кожной инфекции, вызванной *S. aureus*. При этом защита полностью опосредована специфическими антителами, индуцированными кандидатом IBT-V02 [58]. Предварительные эксперименты на мышинной модели предоставляют обнадеживающую информацию для проведения последующих клинических исследований [10].

После провала StaphVAX компания «Nabi» в 2006 г. возобновила разработку модифицированной вакцины-кандидата **PentaStaph**, которая состояла из исходного состава StaphVax, тейхоевой кислоты, α -токсина и лейкоцидина PVL. После завершения фазы I клинических исследований вакцина PentaStaph была продана компании «GlaxoSmithKline Biologicals». В настоящее время препарат PentaStaph находится в фазе I/II клинических исследований [20, 59].

Безопасность, иммуногенность и эффективность вакцины-кандидата GSK против *S. aureus* (**GSK3878858A**) при введении здоровым взрослым и взрослым в возрасте от 18 до 64 лет с недавно перенесённой инфекцией кожи и мягких тканей, вызванной *S. aureus*, изучается в клиническом исследовании фазы I/II³.

Компания «OlymVax» разработала противостафилококковый препарат **rFSAV**, в состав которого входят 5 рекомбинантных антигенов *S. aureus*: Hla, SEB, MntC, IsdB и SpA. При проведении клинических исследований в фазе II показана многообещающая эффективность, установленная в доклинических экспериментах на мышах [60]. В дополнение к стимулированию опсонофагоцитоза, сыворотки мышей, иммунизированных rFSAV, также нейтрализуют литическую активность Hla и предотвращают лёгкое истощение В-клеток селезёнки, наблюдаемое у мышей, опосредованных обработкой SpA [61]. Важно отметить, что вакцина представляет собой альтернативный аспект «иммуногенности» против *S. aureus*: стратегии ингибирования уклонения от иммунитета *S. aureus* (наличие Hla и SpA) [10].

Созданная Университетом здравоохранения унифицированных служб в сотрудничестве с «Nabi Biopharmaceutical» комбинация препарата **S. aureus Toxoids**, содержащая в составе α -гемолизин, LukS-PV и компонент лейкоцидина PVL, проходит клинические исследования фазы I. Антиген LukS-PV в сочетании с антигеном LukF-PV образуют порообразующий октамерный токсин, секретирующийся

¹ A Study to Evaluate the Safety, Reactogenicity and Immunogenicity of GSK Biologicals' Staphylococcal Investigational Vaccine in Healthy Adults. URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01160172?term=GSK2392103A&rank=1>

² Phase I STEBVax in Healthy Adults. URL: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00974935>

³ Safety, Immunogenicity and Efficacy of GSK S. Aureus Candidate Vaccine (GSK3878858A) When Administered to Healthy Adults (Dose-escalation) and to Adults 18 to 64 Years of Age With a Recent S. Aureus Skin and Soft Tissue Infection (SSTI). URL: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04420221>

бактерией отдельно в виде мономеров. Молекула LukS-PV, связываясь со своим рецептором на клетке-мишени, способствует связыванию 4 молекул LukF-PV с эквивалентным количеством LukS-PV, что приводит к образованию октамерного комплекса. Токсин нацелен на полиморфноядерные фагоциты и моноциты [62, 63].

Минздрав России одобрил проведение клинических исследований препарата GSK3878858A (Sa-5Ag с адьювантом), защищающего от *S. aureus*, представленного компанией «GlaxoSmithKline». Вместе с тем, несмотря на полученное от Минздрава России разрешение на проведение клинических исследований, фаза II исследования препарата GSK не будет проводиться, т. к. компания сообщила, что отказывается от новых клинических исследований в России⁴.

В России зарегистрирована **Вакцина стафилококковая лечебная** (Антифагин стафилококковый) для лечения стафилококковых инфекций (АО «Биомед»). Вакцина представляет собой комплекс пептидогликана и тейхоевых кислот, извлекаемый из микробных клеток водно-фенольной экстракцией.

В НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова была разработана стафилококковая вакцина на основе комбинации протективных антигенов (пептидогликан, тейхоевые кислоты, белковые антигены клеточной стенки) из иммуногенных штаммов *S. aureus*, обладающих внутривидовой перекрёстной протективной активностью, а использование щадящего метода выделения антигенов (ацетон, водная экстракция) обеспечило сохранение иммуногенности. Предложенная вакцина, названная авторами «**Стафиловак**», является активатором и стимулятором врождённого и адаптивного иммунитета. Показана защита от септической стафилококковой инфекции у мышей и кроликов. Вакцина в клинических исследованиях при включении в комплексную терапию хронических стафилококковых инфекций (пидермия, фурункулёз и др.) оказывала длительный терапевтический эффект: снижала тяжесть обострений, значительно увеличивала период ремиссии, сокращала потребность в антибиотикотерапии, способствовала индукции интерферона-γ и антител [64–66].

Компания «Медгамал» (филиал НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Россия) зарегистрировала **Анатоксин стафилококковый очищенный** адсорбированный для профилактики инфекций *S. aureus* у лиц с повышенным риском заболевания, а именно: промышленные и сельскохозяйственные рабочие,

подлежащие по роду своей деятельности частому травматизму, а также у больных, которым предстоят плановые операции⁵.

S. aureus является одним из наиболее значимых патогенов для человека. Высокий профиль устойчивости *S. aureus* к антибиотикам вызывает необходимость поиска новых способов борьбы, в том числе разработки вакцин, в дополнение к исследованиям, направленным на разработку новых антибиотиков. Вместе с тем многолетние попытки зарубежных исследователей создать комбинированные вакцины против инфекции *S. aureus* не увенчались успехом. Некоторые кандидаты в вакцины, разработанные на основе различных антигенов *S. aureus*, были забракованы уже на стадии доклинических исследований. При этом многие прототипы вакцин успешно проходили дальнейшие исследования, часть из них успешно прошли фазу II, но из-за низкой эффективности или недоказанной безопасности на фазе III завершали свой путь из-за ряда обстоятельств и выявленных несоответствий заявленному применению.

В настоящее время исследования сосредоточены на выявлении новых составов вакцин, способных вызывать мощные гуморальные и клеточные иммунные реакции. Трансляционные научные исследования пытаются обнаружить корреляты защиты с использованием животных моделей, а также моделей *in vitro* и *ex vivo*, оценивающих эффективность вакцин-кандидатов. Многими учёными показано, что развитие исследований, направленных на поиски протективных компонентов, в частности среди поверхностных и секретируемых *S. aureus* белков, требует использования экспериментальных моделей, позволяющих определить белки, играющие большую роль в патогенезе инфекции [30].

Одним из важнейших факторов, сдерживающих разработку вакцины, является отсутствие успешной трансляции протективности вакцины, которая наблюдается в доклинических исследованиях на экспериментальных моделях, но не подтверждается в клинических исследованиях [10].

В случае вакцины-кандидата SA4Ag было показано, что индуцированный вакциной гуморальный иммунитет является антигенспецифическим по природе и способен индуцировать бактериальный опсонофагоцитоз. Опсонофагоцитарные гуморальные ответы были также продемонстрированы для вакцин-кандидатов V710 и StaphVAX, которые оказались неэффективными на поздних стадиях клинических исследований [10].

Таким образом, возрастает понимание того, что использование опсонофагоцитоза в качестве индикатора антистафилококковой иммуногенности

⁴ GSK не будет проводить КИ вакцины от золотистого стафилококка // Фармацевтический вестник. 01.07.2022. URL: <https://pharmvestnik.ru/content/news/GSK-otkazalas-provodit-KI-vakciny-ot-zolotistogo-stafilokokka.html>

⁵ Анатоксин стафилококковый очищенный. URL: <https://medgamal.ru/products/anatoxin>

недостаточно для одного определения эффективности противостафилококковой вакцины. В связи с этим следует заключить, что ни одна из вакцин-кандидатов, прошедшая поздние стадии клинических испытаний эффективности, не подтвердила индуцированные прототипами вакцин Т-клеточные реакции у людей, являющиеся потенциально решающим аспектом в формировании иммунитета против инфекций, вызванных *S. aureus*.

Ещё одним фактором, который должен учитываться при разработке вакцины против *S. aureus*, является врождённый (естественный) иммунитет у человека. Система врождённого иммунитета способствует ранней защите от *S. aureus* с помощью рецепторов распознавания структуры: Toll-подобного рецептора 2 и нуклеотид-связывающего домена олигомеризации 2, а также стимулирует выработку противомикробных пептидов и специфических путей передачи цитокинов ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , привлекающих нейтрофилы в инфицированные ткани и предотвращающие развитие инфекции [1].

Адаптивный (приобретённый) иммунный ответ, включающий гуморальный и клеточный иммунитет, также способствует защите хозяина. Развитие гуморального иммунитета является важным механизмом, участвующим в снижении инвазии *S. aureus*. Ранее сообщалось, что Т-клетки не являются необходимыми для защиты от *S. aureus* у мышей, но полученные в последнее время результаты показали, что Th1- и Th2-клетки могут играть как положительную, так и отрицательную роль при инфекции *S. aureus*. Активация Th1 приводит к секреции интерферона- γ , который может ускорить устранение системной инфекции, поражающей органы, с помощью усиления ответов макрофагов и повышения экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости. Кроме того, интерферон- γ считается стимулятором переключения изотипа иммуноглобулина на антитела классов IgG1 и IgG3 у человека или гомологичный IgG2A у мышей, который может действовать как опсонин, а Th2-клетки могут быть активированы компонентами клеточной стенки стафилококка, такими как пептидогликан и тейхоевая кислота. Цитокины Th2-клеток индуцируют и мобилизуют противомикробные пептиды, такие как человеческий β -дефенсин-3, являющийся заряженным катионным защитным пептидом, сохраняющим активность против *S. aureus* даже при повышенных концентрациях солей [1, 47, 67].

Учитывая, что цитокины ИЛ-17A и ИЛ-17F участвуют в продукции и привлечении нейтрофилов, Th17-клетки играют важную роль в первичной защите от инфекций, вызванных *S. aureus*. Ассоциированные Th17-лимфоцитами иммунные ответы могут быть направлены на стратегии смягчения развития удалённых инфекций, происходящих от

персистирующего носительства *S. aureus* у человека [68]. Принимая во внимание данные обстоятельства, можно предположить, что непризнание кандидата V710 в вакцины против *S. aureus*, а также наличие низких концентраций ИЛ-2 и ИЛ-17A в сыворотке у привитых, приводящих к летальному исходу, говорит о том, что цитокин ИЛ-17A имеет решающее значение для устранения *S. aureus* у пациента [1].

В данном обзоре представлены последние разработки в мире и в России кандидатов вакцин, направленные на профилактику инфекций, вызываемых *S. aureus*. Вместе с тем создание многокомпонентной вакцины, которая может предотвратить заражение *S. aureus*, оказалось достаточно сложной задачей.

Для успешного прохождения клинических исследований необходимо продемонстрировать валидацию на доклиническом уровне с использованием моделей, которые могут коррелировать с состоянием человека при развитии инфекции [69]. Вакцины, проходящие клинические исследования, используют определённые группы населения с риском заражения, направлены на снижение патогенных свойств и факторов уклонения *S. aureus* от действия как гуморальных, так и клеточных звеньев иммунной системы. Для лицензирования вакцины необходимо доказать её эффективность на клиническом уровне, что не было продемонстрировано ни для одной вакцины-кандидата против *S. aureus*.

Необходимо отметить, что параллельно с созданием вакцин идёт разработка новых терапевтических препаратов против *S. aureus*, например, бактериофагов, моноклональных антител, центриринов и новых классов антибиотиков. При этом обсуждаемые способы лечения представляются как альтернатива вакцинации, вместо того чтобы в данных направлениях проводить параллельные исследования, обмениваться информацией и возможностями для сотрудничества. Например, при предоставлении доказательства эффективности при лечении инфекции *S. aureus* краткосрочная иммунотерапия может определить и предопределить антигенные мишени вакцин против *S. aureus*. Кроме того, учитывая, что в клинических исследованиях в качестве основы для терапевтической эффективности будут использоваться стандартные способы лечения, понимание того, как иммунотерапия, антибиотики и вакцины могут синергизировать друг друга, может быть очень важным при планировании будущих клинических исследований.

Выводы

Проведение за последние годы клинических испытаний кандидатов-вакцин, созданных на основе различных антигенов, оказывающих влияние на заболеваемость, вызванную несколькими фак-

торами патогенности стафилококка, не увенчались успехом из-за их низкой эффективности или недостаточно обоснованной безопасности (развитие нежелательных явлений).

Научное сообщество, несмотря на трудности, продолжает разрабатывать различные варианты с использованием современных технологий, включая сложные конструкции вакцин, способные активировать различные звенья иммунной системы, оказывающие влияние на основные механизмы патогенности *S. aureus*: например, использование цитокинов Th2-клеток, протективных компонентов, в частности, поверхностных и секретируемых *S. aureus* белков, октамерных токсинов, а также дальнейшее изучение опсонофагоцитарных гуморальных ответов.

Перспективными исследованиями для создания вакцин против инфекции *S. aureus* с направленностью на многочисленные факторы патогенности *S. aureus* следует рассматривать использование в составе вакцин комбинации нескольких антигенов, в том числе рекомбинантных белков, а также подбор адьювантов, способствующих усилению иммуногенности очищенных бактериальных антигенов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Jahantigh H.R., Faezi S., Habibi M., et al. The candidate antigens to achieving an effective vaccine against *Staphylococcus aureus*. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(2):199. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines10020199>
- Lowy F.D. *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med.* 1998;339(8):520–32. DOI: <https://doi.org/10.1056/nejm199808203390806>
- Brook I., Frazier E.H. Clinical features and aerobic and anaerobic microbiological characteristics of cellulitis. *Arch. Surg.* 1995;130(7):786–92. DOI: <https://doi.org/10.1001/archsurg.1995.01430070108024>
- Diekema D.J., Pfaller M.A., Schmitz F.J., et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999. *Clin. Infect. Dis.* 2001;32(Suppl. 2):S114–32. DOI: <https://doi.org/10.1086/320184>
- Spellberg B., Daum R. Development of a vaccine against *Staphylococcus aureus*. *Semin. Immunopathol.* 2012;34(2):335–48. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-011-0293-5>
- Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent S.M., et al. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin. Infect. Dis.* 2004;39(3):309–17. DOI: <https://doi.org/10.1086/421946>
- Scheuch M., Frein von Rheinbaben S., Kabisch A., et al. *Staphylococcus aureus* colonization in hemodialysis patients: a prospective 25 months observational study. *BMC Nephrol.* 2019;20(1):153. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12882-019-1332-z>
- Liu C., Bayer A., Cosgrove S.E., et al. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin. Infect. Dis.* 2011;52(3):e18–55. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciq146>
- Wang S.Y., Bu R., Zhang Q., et al. Clinical, pathological, and prognostic characteristics of glomerulonephritis related to staphylococcal infection. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(15):e3386. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000003386>
- Clegg J., Soldaini E., McLoughlin R.M., et al. *Staphylococcus aureus* vaccine research and development: the past, present and future, including novel therapeutic strategies. *Front. Immunol.* 2021;12:705360. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.705360>
- Eshwara V.K., Munim F., Tellapragada C., et al. *Staphylococcus aureus* bacteremia in an Indian tertiary care hospital: observational study on clinical epidemiology, resistance characteristics, and carriage of the Panton-Valentine leukocidin gene. *Int. J. Infect. Dis.* 2013;17(11):e1051–5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.06.002>
- Sit P.S., Teh C.S., Idris N., et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection and the molecular characteristics of MRSA bacteraemia over a two-year period in a tertiary teaching hospital in Malaysia. *BMC Infect. Dis.* 2017;17(1):274. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2384-y>
- Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022.
- Chen W. Current advances and challenges in the development of *Acinetobacter* vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2015;11(10):2495–500. DOI: <https://doi.org/10.1080/21645515.2015.1052354>
- Chiarella P., Massi E., De Robertis M., et al. Recent advances in epitope design for immunotherapy of cancer. *Recent. Pat. Anti-cancer. Drug Discov.* 2009;4(3):227–40. DOI: <https://doi.org/10.2174/157489209789206922>
- Gilbert I. Dissociation in an encapsulated *Staphylococcus*. *J. Bacteriol.* 1931;21(3):157–60. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.21.3.157-160.1931>
- O'Riordan K., Lee J.C. *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004;17(1):218–34. DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.17.1.218-234.2004>
- Crossley K.B., Jefferson K.K., Archer G.L., Fowler V.G. Jr. *Staphylococci in Human Disease*. Hoboken;2009:109–204.
- Jansen K.U., Girgenti D.Q., Scully I.L., Anderson A.S. Vaccine review: "Staphylococcus aureus vaccines: problems and prospects". *Vaccine*. 2013;31(25):2723–30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.04.002>
- Giersing B.K., Dastgheyb S.S., Modjarrad K., Moorthy V. Status of vaccine research and development of vaccines for *Staphylococcus aureus*. *Vaccine*. 2016;34(26):2962–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.03.110>
- Scully I.L., Liberator P.A., Jansen K.U., Anderson A.S. Covering all the bases: preclinical development of an effective *Staphylococcus aureus* vaccine. *Front. Immunol.* 2014;5:109. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00109>
- Falugi F., Kim H.K., Missiakas D.M., Schneewind O. Role of protein A in the evasion of host adaptive immune responses by *Staphylococcus aureus*. *mBio*. 2013;4(5):e00575–13. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.00575-13>
- Clarke S.R., Foster S.J. Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Adv. Microb. Physiol.* 2006;51:187–224. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0065-2911\(06\)51004-5](https://doi.org/10.1016/s0065-2911(06)51004-5)
- Foster T.J., Geoghegan J.A., Ganesh V.K., Höök M. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2014;12(1):49–62. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3161>
- Ortega M.P., Hagiwara T., Watanabe H., Sakiyama T. Factors affecting adhesion of *Staphylococcus epidermidis* to stainless steel surface. *Jap. J. Food Eng.* 2008; 9: 251–9.
- O'Brien L., Kerrigan S.W., Kaw G., et al. Multiple mechanisms for the activation of human platelet aggregation by *Staphylococcus aureus*: roles for the clumping factors ClfA and ClfB, the serine-aspartate repeat protein SdrE and protein A. *Mol. Microbiol.* 2002;44(4):1033–44. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02935.x>

27. Loughman A., Fitzgerald J.R., Brennan M.P., et al. Roles for fibrinogen, immunoglobulin and complement in platelet activation promoted by *Staphylococcus aureus* clumping factor A. *Mol. Microbiol.* 2005;57(3):804–18. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04731.x>
28. Heilmann C., Niemann S., Sinha B., et al. *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein (FnBP)-mediated adherence to platelets, and aggregation of platelets induced by FnBPA but not by FnBPB. *J. Infect. Dis.* 2004;190(2):321–9. DOI: <https://doi.org/10.1086/421914>
29. Shinji H., Yosizawa Y., Tajima A., et al. Role of fibronectin-binding proteins A and B in *in vitro* cellular infections and *in vivo* septic infections by *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun.* 2011;79(6):2215–23. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.00133-11>
30. Zhou H., Xiong Z.Y., Li H.P., et al. An immunogenicity study of a newly fusion protein Cna-FnBP vaccinated against *Staphylococcus aureus* infections in a mice model. *Vaccine.* 2006;24(22):4830–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.03.020>
31. Yu W., Yao D., Yu S., et al. Protective humoral and CD4+ T cellular immune responses of *Staphylococcus aureus* vaccine MntC in a murine peritonitis model. *Sci. Rep.* 2018;8(1):3580. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22044-y>
32. Frenck R.W. Jr., Creech C.B., Sheldon E.A., et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a 4-antigen *Staphylococcus aureus* vaccine (SA4Ag): results from a first-in-human randomised, placebo-controlled phase 1/2 study. *Vaccine.* 2017;35(2):375–84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.11.010>
33. Grumann D., Nübel U., Bröker B.M. *Staphylococcus aureus* toxins — their functions and genetics. *Infect. Genet. Evol.* 2014;21:583–92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.03.013>
34. Otto M. *Staphylococcus aureus* toxins. *Curr. Opin. Microbiol.* 2014;17:32–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.11.004>
35. Berube B.J., Bubeck Wardenburg J. *Staphylococcus aureus* α -toxin: nearly a century of intrigue. *Toxins (Basel).* 2013;5(6):1140–66. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins5061140>
36. Genestier A.L., Michallet M.C., Prévost G., et al. *Staphylococcus aureus* Pantón-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils. *J. Clin. Invest.* 2005;115(11):3117–27. DOI: <https://doi.org/10.1172/jci22684>
37. Diep B.A., Chan L., Tattévin P., et al. Polymorphonuclear leukocytes mediate *Staphylococcus aureus* Pantón-Valentine leukocidin-induced lung inflammation and injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010;107(12):5587–92. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0912403107>
38. Kaito C., Saito Y., Nagano G., et al. Transcription and translation products of the cytolysin gene psm-mec on the mobile genetic element SCCmec regulate *Staphylococcus aureus* virulence. *PLoS Pathog.* 2011;7(2):e1001267. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001267>
39. Denayer S., Delbrassinne L., Nia Y., Botteldoorn N. Food-borne outbreak investigation and molecular typing: high diversity of *Staphylococcus aureus* strains and importance of toxin detection. *Toxins (Basel).* 2017;9(12):407. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins9120407>
40. Roussel S., Felix B., Vingadassalon N., et al. *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France: comparison of different molecular typing methods, including MLVA. *Front. Microbiol.* 2015;6:882. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00882>
41. Дмитренко О.А., Балбуцкая А.А., Скворцов В.Н. Особенности экологии, патогенные свойства и роль представителей группы *Staphylococcus intermedius* в инфекционной патологии животных и человека. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2016;34(3):83–9. DOI: <https://doi.org/10.18821/0208-0613-2016-34-3-83-89> EDN: <https://elibrary.ru/xbjtb>
42. Dmitrenko O.A., Balbutskaya A.A., Skvortsov V.N. Ecological features, pathogenic properties, and role of *Staphylococcus intermedius* group representatives in animal and human infectious pathology. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology.* 2016;31(3):117–24. DOI: <https://doi.org/10.3103/S0891416816030034> EDN: <https://elibrary.ru/yvarhz>
43. Mariutti R.B., Tartaglia N.R., Seyffert N., et al. Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. In: *The Rise of Virulence and Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus.* IntechOpen;2017. DOI: <https://doi.org/10.5772/66528>
44. McAdow M., Missiakas D.M., Schneewind O. *Staphylococcus aureus* secretes coagulase and von Willebrand factor binding protein to modify the coagulation cascade and establish host infections. *J. Innate Immun.* 2012;4(2):141–8. DOI: <https://doi.org/10.1159/000333447>
45. Fattom A., Schneerson R., Watson D.C., et al. Laboratory and clinical evaluation of conjugate vaccines composed of *Staphylococcus aureus* type 5 and type 8 capsular polysaccharides bound to *Pseudomonas aeruginosa* recombinant exoprotein A. *Infect. Immun.* 1993;61(3):1023–32. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.61.3.1023-1032.1993>
46. Fattom A., Schneerson R., Szu S.C., et al. Synthesis and immunologic properties in mice of vaccines composed of *Staphylococcus aureus* type 5 and type 8 capsular polysaccharides conjugated to *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. *Infect. Immun.* 1990;58(7):2367–74. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.58.7.2367-2374.1990>
47. Anderson A.S., Miller A.A., Donald R.G., et al. Development of a multicomponent *Staphylococcus aureus* vaccine designed to counter multiple bacterial virulence factors. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2012;8(11):1585–94. DOI: <https://doi.org/10.4161/hv.21872>
48. Stach C.S., Vu B.G., Merriman J.A., et al. Novel tissue level effects of the *Staphylococcus aureus* enterotoxin gene cluster are essential for infective endocarditis. *PLoS One.* 2016;11(4):e0154762. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154762>
49. Kuklin N.A., Clark D.J., Secore S., et al. A novel *Staphylococcus aureus* vaccine: iron surface determinant B induces rapid antibody responses in rhesus macaques and specific increased survival in a murine *S. aureus* sepsis model. *Infect. Immun.* 2006;74(4):2215–23. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.74.4.2215-2223.2006>
50. Harro C.D., Betts R.F., Hartzel J.S., et al. The immunogenicity and safety of different formulations of a novel *Staphylococcus aureus* vaccine (V710): results of two Phase I studies. *Vaccine.* 2012;30(9):1729–36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.12.045>
51. Paling F.P., Olsen K., Ohneberg K., et al. Risk prediction for *Staphylococcus aureus* surgical site infection following cardiothoracic surgery: a secondary analysis of the V710-P003 trial. *PLoS One.* 2018;13(3):e0193445. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193445>
52. Giersing B.K., Dastgheyb S.S., Modjarrad K., Moorthy V. Status of vaccine research and development of vaccines for *Staphylococcus aureus*. *Vaccine.* 2016;34(26):2962–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.03.110>
53. Scully I.L., Timofeyeva Y., Illenberger A., et al. Performance of a four-antigen *Staphylococcus aureus* vaccine in preclinical models of invasive *S. aureus* disease. *Microorganisms.* 2021;9(1):177. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010177>
54. Hassanzadeh H., Baber J., Begier E., et al. Efficacy of a 4-antigen *Staphylococcus aureus* vaccine in spinal surgery: The STaphylococcus aureus suRgical Inpatient Vaccine Efficacy (STRIVE) randomized clinical trial. *Clin. Infect. Dis.* 2023;77(2):312–20. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciad218>

ОБЗОРЫ

54. Levy J., Licini L., Haelterman E., et al. Safety and immunogenicity of an investigational 4-component *Staphylococcus aureus* vaccine with or without AS03B adjuvant: results of a randomized phase I trial. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2015;11(3):620–31. DOI: <https://doi.org/10.1080/21645515.2015.1011021>
55. Mancini F., Monaci E., Lofano G., et al. One dose of *Staphylococcus aureus* 4C-staph vaccine formulated with a novel TLR7-dependent adjuvant rapidly protects mice through antibodies, effector CD4+ T Cells, and IL-17A. *PLoS One.* 2016;11(1):e0147767. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147767>
56. Torre A., Bacconi M., Sammiceli C., et al. Four-component *Staphylococcus aureus* vaccine 4C-staph enhances Fcγ receptor expression in neutrophils and monocytes and mitigates *S. aureus* infection in neutropenic mice. *Infect. Immun.* 2015;83(8):3157–63. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.00258-15>
57. Wacker M., Wang L., Kowarik M., et al. Prevention of *Staphylococcus aureus* infections by glycoprotein vaccines synthesized in *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 2014;209(10):1551–61. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jit800>
58. Chen W.H., Pasetti M.F., Adhikari R.P., et al. Safety and immunogenicity of a parenterally administered, structure-based rationally modified recombinant *Staphylococcal* enterotoxin B protein vaccine, STEBVax. *Clin. Vaccine Immunol.* 2016;23(12):918–25. DOI: <https://doi.org/10.1128/cvi.00399-16>
59. Karauzum H., Venkatasubramaniam A., Adhikari R.P., et al. IBT-V02: A multicomponent toxoid vaccine protects against primary and secondary skin infections caused by *Staphylococcus aureus*. *Front. Immunol.* 2021;12:624310. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.624310>
60. Huda T., Nair H., Theodoratou E., et al. An evaluation of the emerging vaccines and immunotherapy against staphylococcal pneumonia in children. *BMC Public Health.* 2011;11(Suppl 3):S27. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2458-11-s3-s27>
61. Zeng H., Yang F., Feng Q., et al. Rapid and broad immune efficacy of a recombinant five-antigen vaccine against *Staphylococcus aureus* infection in animal models. *Vaccines (Basel).* 2020;8(1):134. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines8010134>
62. Pozzi C., Olaniyi R., Liljeroos L., et al. Vaccines for *Staphylococcus aureus* and target populations. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2017;409:491–528. DOI: https://doi.org/10.1007/82_2016_54
63. DuMont A.L., Torres V.J. Cell targeting by the *Staphylococcus aureus* pore-forming toxins: it's not just about lipids. *Trends Microbiol.* 2014;22(1):21–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.10.004>
64. Camussone C.M., Reidel I.G., Molineri A.I., et al. Efficacy of immunization with a recombinant *S. aureus* vaccine formulated with liposomes and ODN-CpG against natural *S. aureus* intramammary infections in heifers and cows. *Res. Vet. Sci.* 2022;145:177–87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.02.014>
65. Ефремова В.Н., Егорова Н.Б., Масюкова С.А. Бесклеточная антистафилококковая вакцина для лечения хронической стафилококковой инфекции. Патент РФ № 2122862; 1998. Efremova V.N., Egorova N.B., Masjukova S.A. Cell-free anti-staphylococcus vaccine for treatment of patients with chronic staphylococcus infection. Patent RF № 2122862; 1998. EDN: <https://elibrary.ru/zmcgld>
66. Егорова Н.Б., Ефремова В.Н., Курбатова Е.А., Грубер И.М. Экспериментальная и клинико-иммунологическая оценка бесклеточной стафилококковой вакцины «Стафиловак». *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2008;(6):102–108. Egorova N.B., Efremova V.N., Kurbatova E.A., Cruber I.M. Experimental, clinical and immunologic assessment of acellular staphylococcal vaccine «Staphylovac». *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2008;(6):102–108. EDN: <https://elibrary.ru/jwdtmj>
67. Грубер И.М., Егорова Н.Б., Курбатова Е.А., Михайлова Н.А. Стратегия разработки противостафилококковых иммунопрофилактических и иммунотерапевтических препаратов. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы.* 2013;(4):31–8. Gruber I.M., Egorova N.B., Kurbatova E.A., Mikhailova N.A. Strategy for design of antistaphylococcal drugs for immunoprophylaxis and immunotherapy. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items.* 2013;(4):31–8. EDN: <https://elibrary.ru/rquvgn>
68. Karauzum H., Datta S.K. Adaptive immunity against *Staphylococcus aureus*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2017;409:419–39. DOI: https://doi.org/10.1007/82_2016_1
69. Parker D., Ryan C.L., Alonzo F. 3rd, et al. CD4+ T cells promote the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* pneumonia. *J. Infect. Dis.* 2015;211(5):835–45. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu525>
70. Горенков Д.В., Комаровская Е.И., Солдатов А.А. и др. Современные нормативные требования к проведению доклинических исследований профилактических вакцин. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2023;23(1):7–25. Gorenkov D.V., Komarovskaya E.I., Soldatov A.A., et al. Current regulatory requirements for non-clinical evaluation of prophylactic vaccines. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2023;23(1):7–25. DOI: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-1-7-25>

Информация об авторах

Буйлова Ирина Александровна[✉] — к. фарм. н., главный эксперт Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия, builova@expmed.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3787-269X>

Савкина Мария Владимировна — к. б. н., главный эксперт Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8527-2157>

Саяпина Лидия Васильевна — д. м. н., главный эксперт Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2272-2621>

Кривых Максим Андреевич — к. фарм. н., зам. начальника Управления по экспертизе противобактериальных медицинских иммунобиологических препаратов Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2003-1264>

Обухов Юрий Иванович — начальник Управления по экспертизе противобактериальных медицинских иммунобиологических препаратов Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7729-9800>

Information about the authors

Irina A. Builova[✉] — Cand. Sci. (Pharm.) chief expert, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia, builova@expmed.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3787-269X>

Maria V. Savkina — Cand. Sci. (Biol.), chief expert, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8527-2157>

Lidiya V. Sayapina — D. Sci. (Med.), chief expert, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2272-2621>

Maxim A. Krivykh — Cand. Sci. (Pharm.), Deputy Head, Department for expertise of antibacterial medical immunobiological preparations, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2003-1264>

Yury I. Obukhov — Head, Department for expertise of antibacterial medical immunobiological preparations, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7729-9800>

Участие авторов: Буйлова И.А. — проведение поисково-аналитической работы и анализ научной литературы; Савкина М.А. — проведение анализа научной литературы; Саяпина Л.В. — анализ и редактирование статьи, подготовка материалов для публикаций; Кривых М.А. — анализ и редактирование статьи; Обухов Ю.И. — подготовка статьи для публикаций. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 23.05.2024;
принята к публикации 28.07.2024;
опубликована 29.08.2024

Author contribution. Builova I.A. — conducting search and analytical work and analyzing scientific literature; Savkina M.A. — analyzing scientific literature; Sayapina L.V. — analyzing and editing the article, preparing materials for publication; Krivykh M.A. — analyzing and editing the article; Obukhov Yu.I. — preparing the article for publication. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 23.05.2024;
accepted for publication 28.07.2024;
published 29.08.2024